

Aus dem Hygiene-Institut der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

Direktor: Prof. Dr. H. Kliewe

**Experimentelle Beobachtungen
über Antibiotika-Toxizität und Darmflora
bei Meerschweinchen**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt
von Walter-Ludwig Eyber
Mainz 1961

Aus dem Hygiene-Institut der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

Direktor: Prof. Dr. H. Kliewe

**Experimentelle Beobachtungen
über Antibiotika-Toxizität und Darmflora
bei Meerschweinchen**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz



vorgelegt
von Walter-Ludwig Eyber
Mainz
1961

Dekan: Prof. Dr. K. Lang
Korreferent: Prof. Dr. H. Kliewe
Referent: Priv.-Doz. Dr. S. Carlson

Tag der mündlichen Prüfung: 14. November 1961

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	5
Literatur-Studien	6
Darmbakterien-Gruppen	6
Bedeutung der Darmbakterien	7
Lokalisierung der Darmbakterien	8
Keimverschiebungen	9
Dysbakterie	10
Substitution mit Colibakterien	11
Wirkung der Antibiotika auf Mikroorganismen und Zellen eines Makroorganismus	12
Nebenwirkungen der Antibiotika	13
Postantibiotische Enterocolitis	15
Antibiotika-Toxizität am Versuchstier	16
Experimenteller Teil	19
A. Untersuchungen über Antibiotika-Toxizität bei Meerschweinchen	19
Die normale Meerschweinchen-Darmflora	19
Terramycin-Fütterung	22
Bacitracin-Fütterung	27
Diskussion bisheriger Ergebnisse in Verbindung mit Ergänzungs- versuchen	28
Warburg-Versuche	30
Serologische Untersuchungen	34
Immunisierung von Meerschweinchen mit Colibakterien-Formol- Impfstoff	35
Colibakterien-Kulturfiltrate	37
Extraktion des Colitoxins aus dem Kulturfiltrat	37
Behandlung mit Colibakterien-Kulturfiltrat	38
B. Versuche zur Unterdrückung der Antibiotika-Toxizität beim Meer- schweinchen mit einer resistenten oder therapeutisch unterstützten Kollektiv-Flora	39
Laktobakterien-Präparate	39
Vitamin-B-Komplex-Präparate	42
Milchsäure — Ammoniumlaktat — Aktiv-Kohle	42
C. Versuche zur Unterdrückung der Antibiotika-Toxizität beim Meer- schweinchen durch Eliminierung der Coli-Flora	43
Neomycin	43
Intestin-Euvernil	43

D. Versuche zur Unterdrückung der Antibiotika-Toxizität beim Meer- schweinchen durch Unterstützung der Entgiftungsfunktionen des Organismus	45
Reducdyn	45
E. Passive Schutzimpfung mit vorgebildeten Coli-Antikörper	46
Diskussion	47
Zusammenfassung	49
Diagramme	51
Literatur-Verzeichnis	57
Danksagungen	63
Lebenslauf	64

EINLEITUNG

Der Mensch befindet sich in besonders innigem Kontakt während des Lebens mit Mikroorganismen, die er in oder an seinem Körper beherbergt, denen er eine Existenzgrundlage liefert und deren Stoffwechselprodukte ihn beeinflussen können. Die bevorzugten Besiedelungsstellen sind Haut und Schleimhäute. Dort läßt sich eine Vielzahl der Mikroorganismen-Arten nachweisen, deren Dichte und Zusammensetzung stetig wechselt, da Lebensdauer und Vermehrungsquote der einzelnen Mikroorganismen von verschiedenen, nur teilweise bekannten Faktoren abhängt.

Eine besondere Bedeutung besitzen diese Vorgänge an den Schleimhäuten des Verdauungstraktes, weil dort der Makroorganismus seine Nahrungsstoffe resorbiert und den Durchtritt einer Reihe artspezifischer Bakterienstoffwechselprodukte zuläßt. Die Darmflora war aus diesem Grund Gegenstand vieler Untersuchungen, die die Aufgabe der Darmbakterien für den Menschen, den Einfluß exogener und endogener Faktoren des Wirtsorganismus auf die Keimrelationen und die gegenseitige Beeinflussung der Darmkeimgruppen untereinander betrafen. Trotz Klärung zahlreicher Einzelfragen auf diesen Gebieten brachte im letzten Jahrzehnt erst die Anwendung antibakterieller Substanzen durch ihre gezielte Keimselektion im Organismus einen näheren Einblick in die Zusammenhänge dieses komplexen Geschehens. Da diese Selektion eine Änderung innerhalb der Darmflora bewirkt, welches häufig mit Nebenwirkungen verbunden war, maß man von diesem Zeitpunkt an einer normal zusammengesetzten intestinalen Bakterienbesiedlung eine noch wichtigere Bedeutung bei, als es früher der Fall war. Andererseits rückten damit aber auch Antibiotika und Sulfonamide in ein ganz anderes Licht, und es traten Zweifel an der Ungefährlichkeit dieser Substanzen auf, die bisher für den Menschen nur als nützlich angesehen wurden und von denen man so gut wie keine schädigenden Einwirkungen erwartete.

Zahlreiche Publikationen liegen aus den verschiedensten medizinischen Disziplinen über die vermeintlichen Ursachen der beobachteten Antibiotika-Nebenwirkungen vor. Einerseits werden sie als toxische Wirkung des Antibiotika-Moleküls auf die Zellen des Makroorganismus angesehen, andererseits wird den eingetretenen Veränderungen innerhalb der Darmflora die ausschlaggebende kausale Bedeutung beigemessen. Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es, die Forschungsergebnisse dieses Gebietes kritisch zu betrachten und auf Grund eigener Untersuchungen zur weiteren Klärung beizutragen, welche der beiden erwähnten Ursachen bei der Auslösung derartiger toxischer Antibiotikawirkungen im Vordergrund steht, oder ob beide in gleichem Maße daran beteiligt sind. Da die beim Menschen bereits unter natürlichen Lebensbedingungen sehr stark wechselnde Zusammensetzung der Darmflora eine exakte Sicherung der Versuche in dieser Richtung verhindert, bietet sich in

diesem Falle als geeignetes Versuchstier das gegen Antibiotika sehr empfindliche Meerschweinchen an, welches über eine relativ konstante Darmflora verfügt und somit für die zu klärenden Fragestellungen günstige Voraussetzungen schafft, wobei allerdings Parallelen zu den Verhältnissen beim Menschen nur bedingt gezogen werden können. Die weitere Aufgabe betraf therapeutische Möglichkeiten zur Verhinderung der schädigenden Nebenwirkungen der Antibiotika.

LITERATUR-STUDIEN

DARMBAKTERIEN-GRUPPEN

Der Verdauungstrakt des Menschen und der höheren Säugetiere ist von Geburt an mit einer Vielzahl von Mikroorganismen besiedelt, denen Sekrete der Verdauungsorgane und nicht resorbierte Nahrungsbestandteile eine Grundlage für Vermehrungs- und Stoffwechseltätigkeit bieten (33). Über die Stärke dieser Vermehrungstätigkeit gibt die Zahl der täglich im Stuhl ausgeschiedenen Keime eindrucksvollen Aufschluß, die beim Erwachsenen 10^{12} Keime/g beträgt (33) und zahlenmäßig etwa der Dickdarmflora entspricht. Diese zeigt folgende prozentuale Zusammensetzung (33, 35, 36, 42):

- 1— 5 % Colibakterien,
- 30—40 % anaerobe Bacteroides-Bakterien,
- 30—40 % anaerobe Laktobakterien,
- 10 % Enterokokken und
- 1— 5 % Mikrokokken, Clostridien sowie Staphylokokken,

wobei HAENEL (33) darauf hinweist, daß es nicht ausgeschlossen sei, daß andere Bakteriengenera der Kultivierung bisher entgangen seien, da das Milieu künstlicher Nährböden dem Milieu in vivo nicht entspreche. Aus diesem Grund waren bisher von den mikroskopisch zählbaren Keimen pro Gramm Dickdarminhalt kulturell meist nicht mehr als 1 % nachweisbar (33). Der Rest kann aus abgestorbenen Bakterien, aber auch aus in vitro nicht kultivierbaren Keimen bestehen. In diesem Zusammenhang muß auch darauf hingewiesen werden, daß Ergebnisse in der Literatur stark differieren können, da die Anwachquote der Mikroorganismen in vitro vom verwendeten Nährmedium abhängig ist. Noch vor einigen Jahren war es infolge unzulänglicher Nährbodentechnik überhaupt nicht möglich, verwertbare Angaben zu machen, da ein großer Teil der Keime sich in vitro gar nicht oder nur mangelhaft kultivieren ließ. Aussagen über exakte Keimrelationen scheitern auch heute noch an der unzureichenden bakteriologischen Technik (33, 47).

Bei einer qualitativen bakteriologischen Untersuchung unter Inkaufnahme der angeführten Fehlerquellen findet man im menschlichen Stuhl folgende Mikroorganismen (95):

E. coli, Klebsiella (Aerobakter), Proteus-Arten,
 Keime der Pseudomonas-, Alkaligenes-, Moraxella-, Diplococcus
 mucosus-Gruppe,
 Streptokokken,
 Staphylokokken, Corynebakterien (z. B. C. aknes),
 Sporenbildner,
 Milchsäurestäbchen (Acidophilus- sowie Bifidus-Arten),
 seltenere gramnegative Keime,
 Spieß- und Schimmelpilze und
 diverse Protozoen,

von denen 70—90 % und nicht, wie bisher angenommen, 5 % lebensfähig sind (95).

Also fast alle Keime, denen mit Ausnahme der Laktobakterien an einem anderen Ort eine nicht unerhebliche pathogenetische Bedeutung zukommen könnte, deren Anwesenheit im Dickdarm jedoch ein durchaus normales Bild darstellt. Der Gesamtkeimdruck setzt die vorhandene Nahrung und der Antagonismus untereinander sowie ständiger Abtransport eine obere Grenze, kann der Mensch doch seinen Keimgehalt allein durch wenige Tage Hunger auf $\frac{1}{5}$ des ursprünglichen Gehaltes an Mikroorganismen reduzieren (42).

BEDEUTUNG DER DARMBAKTERIEN

Wendet man sich der Frage der pathogenetischen Bedeutung der natürlichen Darmbakterien zu, so lassen sich bis heute keine endgültigen Aussagen darüber machen. Als nicht darmpathogen werden Laktobakterien, Klebsiellen, Aerobakter angesehen (95). Unbewiesen ist diese Frage bereits bei verschiedenen E. coli-, Proteus- und Providencia-Arten (95). Desgleichen herrscht über die physiologische und pathogenetische Bedeutung der im Darm vorkommenden Mikrokokken, Streptokokken sowie aeroben und anaeroben Sporenbildner wenig Klarheit (95). Möglicherweise sind diese Tatsachen unter einem naturgegebenen Kräftegleichgewicht zwischen den einzelnen Keimarten belanglos. Durch exogene und endogene Faktoren kann aber dieses Gleichgewicht in seiner Konstanz beeinträchtigt werden, so daß die angeschnittenen Fragen jederzeit erhebliche Bedeutung gewinnen können. Aussagen über die sich dann im Darmtrakt abspielenden Vorgänge werden nur sehr schwer zu treffen sein, und es ist zweifelhaft, ob in solchen Fällen nicht einige der betreffenden als harmlos angesehenen Keimarten enteropathogene Eigenschaften annehmen, zumal mit Ausnahme der Laktobakterien sämtliche Darmkeime anderen Ortes bei entsprechender Disposition ihre Pathogenität entfalten.

Ebenso schwer ist die Frage zu diskutieren nach dem positiven Einfluß einer normalen Darmflora auf die Gesundheit des Menschen. Obwohl schon seit langem bekannt ist, daß Colibakterien, Laktobakterien und Pilze gute Vitaminbildner sind, ist bis jetzt noch nicht erfaßbar, inwieweit die durch eine normale Darmflora synthetisierten Vitamine überhaupt dem Wirtsorganismus zugute kommen (59, 95), vor allem, wenn man bedenkt daß diese Keime gleich-

zeitig starke Vitaminverbraucher sind (2, 95) und die Resorption der mit der Nahrung aufgenommenen Vitamine nur im Dünndarm vor sich geht, demnach nur die im unteren Ileum durch die dort viel weniger vorhandene Coli-Aerogenes-Flora synthetisierten Vitamine resorbiert werden können (42); der Dickdarm ist vorwiegend Exkretionsorgan (6). Es ist aber anzunehmen, daß bei ausreichendem Vitamingehalt der Nahrung die Vitaminsynthese der Darmbakterien keine Rolle spielt (42). Bei Vitaminmangel soll jedoch die Darmflora, sofern sie das benötigte Vitamin ausreichend produziert, Lücken in der Vitaminversorgung ausgleichen können (33). Neben der Vitaminproduktion können verschiedene Bakterienarten bei der Aufschließung von Nahrungsstoffen des Wirtsorganismus, wie z. B. bei Laktose- und Zellulosespaltung, beteiligt sein (95). Gleichmaßen werden den Darmbakterien gewisse immunisierende Fähigkeiten zugesprochen (42). Die Lebensnotwendigkeit einer normalen Darmflora für den Organismus stellt SEELIGER aber in Frage und führt als Beweis die Versuche amerikanischer Autoren mit steril aufgezogenen Tieren an, die ohne Darmflora gut leben konnten. Auch HERRMANN und HOFMANN (42) kommen zu dem Schluß, die Darmflora habe praktisch keine positiven Auswirkungen auf die Gesundheit des Menschen, jedoch stelle der Darm mit seinen Bakterien für Mensch und Tier eine potentielle Gefahr dar.

LOKALISIERUNG DER DARMBAKTERIEN

Die Keimdichte längs des Verdauungstraktes ist außerordentlich schwankend. Magen, Duodenum und Jejunum des Erwachsenen sind keimarm bzw. keimfrei (6, 42, 103) gegenüber dem Dickdarm, dessen ziemlich konstanter Keimgehalt sich aufwärts bis auf das untere Jejunum erstreckt, wo nach Untersuchungen von HENNING und Mitarbeitern (41) folgende prozentuale Keimverhältnisse anzutreffen sind:

- 26 % Laktobakterien,
- 23 % Streptokokken,
- 9 % Enterokokken,
- 11 % andere vergrünende Streptokokken,
- 16 % E. coli (Laktose positiv),
- 4,5 % E. coli (Laktose negativ) und
- 10 % Bacteroides-Gruppe.

Für die Keimarmut in den oberen Darmabschnitten (Dünndarm) machen BAUMGÄRTEL und ZAHN (6) das saure Milieu verantwortlich wobei dem pH-Wert der Magensäure, welche teilweise noch im Jejunum wirke, dem Vorhandensein gallensaurer Salze (42) und einer Barriere von säurebildenden, acidotoleranten Bakterien im Ileum eine besondere Bedeutung zukomme (41, 52). Man beobachtet nämlich im Verlauf des Dünndarmes in caudaler Richtung eine Zunahme grampositiver acidotoleranter Enterokokken und bestimmter Milchsäurebakterien wie *Bact. lacticum* und *Bact. acidophilum*, deren Säureproduktion BAUMGÄRTEL und ZAHN (6) eine wesentliche Schutzfunktion gegenüber der weitaus mehr Keime enthaltenden Dickdarmflora des Erwach-

senen zuschreiben, so daß sich im unteren Ileum die oben angegebene, starken Verschiebungen unterliegende Milchflora, einstellt. Anders erscheint das Bild beim Kleinkind. Die klassische Ansicht, daß die für das Brustkind charakteristische Bifidusflora später beim erwachsenen Menschen durch *E. coli* im Dickdarm verdrängt würde (64), widerlegte HAENEL (33) durch Züchtung von *Lactobacillus bifidus* auf geeigneten Nährböden, der beim Erwachsenen eine gleich starke Bifidusflora wie beim Brustkind fand, wobei *L. bifidus* teilweise ein Vielfaches der gleichzeitig kultivierbaren Colibakterien ausmachte. Also wird *L. bifidus* beim Erwachsenen nicht verdrängt, sondern durch andere Faktoren, wie z. B. Änderung der Nahrung, durch *E. coli* so maskiert, daß es den üblichen klinisch-bakteriologischen Analysen entgeht. Dadurch gelangt HAENEL zu der Folgerung, daß die Colibakterien wahrscheinlich nur eine Begleitflora anderer, meist wesentlich häufigerer Keime sind, welche sich nur in dem Maße vermehren, wie ihnen Nahrungsstoffe zur Verfügung stehen, die für die Hauptflora, wie etwa die Bifidus-Gruppe, unverwertbar sind. Dies findet auch in der eingangs erwähnten prozentualen Aufteilung der Dickdarmkeime sichtbaren Ausdruck (33, 35, 36, 42).

KEIMVERSCHIEBUNGEN

Keimverschiebungen innerhalb der Darmflora sind außerordentlich schwer zu beurteilen, da einmal exakte Analysen von Keimrelationen infolge des ungenauen Bildes, das man durch kulturelle Züchtungsverfahren gegenüber den tatsächlichen Verhältnissen *in vivo* erhält (wie z. B. Nährbodenmilieu, Schwierigkeit der Materialentnahme in verschiedenen Darmabschnitten, methodische Fehlerquellen), nicht zu erstellen sind (33), andererseits innerhalb der normalen Darmflora die individuelle Keimdichte, Zusammensetzung und Lokalisierung starken Schwankungen unterliegt und von den verschiedensten Einflüssen abhängig ist (33, 41, 42). So führt eine Hyperacidität des Magens beim Menschen zu einer verlängerten distalen Säuerung des Dünndarmes. Diese Änderung des Milieus findet in einer Zunahme acidotoleranter Enterokokken im Stuhl sichtbaren Ausdruck, wohingegen Sub- oder Anacidität einen starken Rückgang der Enterokokken und ein Aufwandern von Coli- und Aerogenes-Bakterien, eventuell bis zum Magen bewirken kann (2, 6). Nahrungsbedingt ist die drastische Erhöhung der Coli-Ziffern und proteolytischen Keime bei eiweißreicher Kost, sog. Fäulnisflora (33), deren gesundheitsschädigender Einfluß beim Kleinkind lange bekannt ist.

Weiterhin führen Sekretionsstörungen, Verdauungsstörungen, Störungen der Motilitätsverhältnisse, Alkoholgenuß, Infektionskrankheiten, antibakteriell wirksame Arzneien zu Schwankungen der Zusammensetzung der qualitativ normal bleibenden Darmflora, wobei SEELIGER (95) betont, daß der Rückschluß einer festgestellten Keimverschiebung auf deren primäre Ursache schwer oder überhaupt nicht möglich ist, da dieselben auf diverse einzelne Einflüsse oder Kombinationen von Einflüssen zurückgehen und alle Übergänge, vom Physiologischen bis zur pathologischen Veränderung widerspiegeln können. Un-

abhängig von den Ursachen können über ein gewisses Maß hinaus eingetretene Keimverschiebungen unangenehme Wirkungen mit sich ziehen. Dyspepsie, Enteritis und Colitis sind, sofern sie nicht durch ausgesprochene Infektionserreger bedingt sind, nichts anderes als eingetretene Keimverschiebungen normalerweise qualitativ vorhandener Darmbakterien, wobei eine Keimgruppe entweder die Oberhand gewonnen hat oder durch Standortwechsel, wie z. B. Aufwandern in den Dünndarm, toxische Bedeutung für den Makroorganismus gewinnt. Die normal zusammengesetzte Darmflora erhält daher eine wichtige Funktion, da sie ein erhebliches antagonistisches Potential darstellt, sowohl gegen darmfremde Keime, als auch gegen Keimarten aus ihren eigenen Reihen, deren Überhandgewinnen und Aufwandern durch die gegenseitige Beeinflussung verhindert wird.

DYSBAKTERIE

Den Begriff Dysbakterie schuf NISSLE (65, 66, 67) in einer Zeit, als man den Colibakterien noch eine wesentliche Funktion zuschrieb, da diese nährbodenbedingt an erster Stelle in der Stuhlflora lagen. Man fand nämlich biochemisch unterschiedliche Arten von *E. coli* im Stuhl von Gesunden und Kranken, und zwar häufiger Laktose vergärende sogenannte „hochwertige“ Coli und etwas seltener Laktose nicht vergärende „Coliforme“ (4). Nach NISSLE ist die Dysbakterie eine Fehlbesiedlung des Darmes mit diesen „biologisch minderwertigen“ Keimen, die auf fast alle Organe des menschlichen Körpers rückwirke und so zu einem selbständigen Krankheitsbild führen soll.

BAUMGÄRTEL nahm dagegen als Ursache dieser Dysbakterie eine primäre Änderung des Darmmilieus an, welche zu einer Degeneration von Colistämmen führe, d. h. zu toxischen Paracoli, die wiederum die Ursache mannigfaltiger Krankheitsbilder seien (3, 4, 5).

Beide Theorien haben sich als nicht haltbar erwiesen, da

1. die Colibakterien tatsächlich nur einen geringen Anteil der Stuhlflora darstellen und ihre alleinige Berücksichtigung schon aus diesen quantitativen Gesichtspunkten nicht aufrecht erhalten werden kann (42).
2. Da die Unfähigkeit, Laktose zu spalten, Gas zu bilden und andere biologische Merkmale wohl diagnostisch wertvolle Coli-Differenzierungsmethoden sind, weil z. B. Typhus, Paratyphus, Salmonellen und Shigellen diese Fähigkeiten nicht besitzen, die dann zu dem Analogieschluß führten, daß das Vorkommen Laktose negativer Colibakterien auf pathologische Verhältnisse hindeutet bzw. für eine biologische Minderwertigkeit der *E. coli*-Typen spricht (84).

Erst nach Einführung einer exakten Coli-Serodiagnostik durch KAUFFMANN (47, 48) ließen sich einige serologisch abgrenzbare Typen durch ihr vermehrtes Vorkommen bei Darmerkrankungen absondern, unter denen sich sowohl Laktose positive wie Laktose negative befanden, die beim Menschen eindeutige Enteropathogenität besaßen (18). Damit gelang KAUFFMANN der Nachweis,

daß die Laktosevergärung von *E. coli* keinesfalls ein bestimmendes Pathogenitätsmerkmal ist (49).

Ähnlich ist es mit allen anderen biochemischen Eigenschaften von *E. coli*. Innerhalb zahlreicher Serogruppen und Serotypen sind alle biochemischen Übergänge vorhanden von Laktose negativen, unbeweglichen, gaslosen bis zu Laktose vergärenden, beweglichen, aerogenen *E. coli* (94, 96). Auf Grund dieser Tatsachen läßt SEELIGER als einzige Differenzierungsmethoden menschenpathogener Colitypen gegenüber Normalcoli die serologische Typisierung und das Verhalten des infizierten Menschen gelten. Er stellt damit die Forderung, den Begriff Dysbakterie durch exakte Gattungs- und Art-Diagnosen zu ersetzen. Auch KUHLMANN und HERRMANN (53) weisen in diesem Zusammenhang auf die individuelle Serologie hin, d. h. die Testung darmeigener Bakterien auf ihre Pathogenität durch Komplementbindung, Scratch-Test und Antikörpernachweis.

SUBSTITUTION MIT COLIBAKTERIEN

Basierend auf der Theorie von NISSLE, daß die Dysbakterie durch das Vorhandensein „biologisch minderwertiger“ Colibakterien, die — wie erwähnt — als Hauptbewohner des Darmes gehalten wurden, bedingt sei und der vielfach vermuteten Wechselbeziehung zwischen Dysbakterie und gleichzeitig vorhandenen organischen Leiden, sah man in der Eliminierung dieser „entarteten“ Colibakterien eine therapeutische Möglichkeit für die Behandlung dieser organischen Leiden. Das führte zu den Substitutionsbemühungen mit „biologisch hochwertigen“ Colibakterien oral oder per Clyisma, denen durch die Klärung des Begriffes Dysbakterie und die neuen Erkenntnisse über die Bedeutung der Colibakterien im Darm der ursprüngliche Sinn genommen wurde, abgesehen davon, daß es außerordentlich schwer ist, einen körperfremden Stamm in einem ausgefüllten, antagonistisch wirkenden Keimmilieu dauerhaft anzusiedeln.

Gründe für dennoch eingetretene therapeutische Erfolge könnten nach HAENEL (33) etwa die einer unspezifischen Reiztherapie sein.

Überblickt man das Gesamtgebiet der Darmflora, so läßt sich feststellen, daß die Vorstellungen über die dort herrschenden mikrobiellen Verhältnisse bis zu Beginn der Antibiotika-Ära sehr unvollkommen waren und vielfach auch von falschen Vorstellungen getragen wurden. Teils lag dies an einer weniger entwickelten Untersuchungstechnik und teils auch an der Tatsache, daß man pathologische Zustandsbilder in einer weitaus geringeren Zahl beobachtete, wenn man von den infektiös ausgelösten Darmlationen absieht.

Eine Wendung brachte die Einführung der Antibiotika-Therapie, in deren Folge man gehäuft intestinale Komplikationen beobachtete, die Gegenstand zahl-

reicher Untersuchungen wurden. Die in Frage kommenden Ursachen dieser intestinalen Komplikationen und die Rolle, die der Darmflora dabei zukommt, sollen im Folgenden behandelt werden, wobei man sich zunächst mit der Frage der Wirkung der Antibiotika auf den Makroorganismus und Mikroorganismus auseinandersetzen muß.

WIRKUNG DER ANTIBIOTIKA AUF MIKROORGANISMEN

UND ZELLEN EINES MAKROORGANISMUS

Prinzipiell können alle Wirkungen der Antibiotika auf den Makroorganismus erklärt werden durch:

1. Wirkungen, die durch chemische, strukturbedingte Einwirkungen der antibiotischen Substanzen auf die Zellen des Makroorganismus ausgelöst werden und
2. Wirkungen, die durch die unterschiedliche Ansprechbarkeit verschiedener Mikroorganismen auf ein Antibiotikum hervorgerufen werden, in deren Folge dann Störungen des physiologischen Gleichgewichtes der Körperflora mit entsprechenden Erscheinungen auftreten.

Beide Möglichkeiten können kombiniert sein, so daß es oft sehr schwer ist, zu beurteilen, welche der beiden Wirkungen im gegebenen Fall im Vordergrund steht, zumal die Wirkungsweise der Wachstumshemmung sowohl bei Mikroorganismen, als auch bei Zellen des Makroorganismus auf ganz ähnlichen Mechanismen beruht.

Nach MOSONYI (61) ist die Grundlage der antibakteriell genannten Wirkung bei jedem einzelnen Antibiotikum stets die Störung der Funktion eines oder mehrerer Ferment-Systeme, die lebenswichtige Bedeutung für den Mikroorganismus besitzen. Da es unzweifelhaft ist, daß trotz der Verschiedenheit der räumlichen und umgebungsbedingten Verhältnisse die grundlegenden Lebensvorgänge (Atmung, Assimilation und Dissimilation) einer jeden Zelle eines mehrzelligen Wesens, wie auch die eines Einzellers durch den gleichen Gesetzmäßigkeiten folgende Enzym-Systeme versehen werden und es kaum einen enzymatischen Vorgang gibt, der nicht durch ein Antibiotikum beeinflusst werden kann, müssen folglich die Antibiotika ebenfalls auf die Lebensvorgänge der Zellen des Makroorganismus wirken. Hierbei ist allerdings zu beachten, daß

1. der Makroorganismus aus vielen verschiedenen Zellen besteht, die eine unterschiedliche Antibiotika-Toleranz besitzen;
2. sich die Zellen eines Makroorganismus weniger häufig teilen,
3. infolge der häufigeren Teilungen der Mikroorganismen mehr jugendliche und dadurch antibiotika-empfindlichere Bakterienformen vorhanden sind,
4. innere Struktur und Aufbau der Zelle des Mikroorganismus und des Makroorganismus verschieden sind und

5. besitzen die Zellen des Makroorganismus eine höhere „osmotische Barriere“, eine geringere Adsorptionsfähigkeit, Permeabilität und Diffusionsgeschwindigkeit besonders an den Grenzflächen der Mitochondrien.

Durch diese Punkte wird zwar die Möglichkeit der Wirkung von Antibiotika auf Zellen des Makroorganismus eingeengt, grundsätzlich darf aber bei der Beurteilung der Antibiotika-Toxizität die zytotoxische Komponente nicht unbeachtet bleiben, da diese auch bei scheinbarer Geringfügigkeit von Wichtigkeit sein kann.

NEBENWIRKUNGEN DER ANTIBIOTIKA

ORZECZOWSKI (69) teilt die Nebenwirkungen in primäre, von der pharmakologischen Wirksamkeit der chemischen Substanz abhängige Wirkungen ein, über deren Mechanismus teilweise wenig bekannt ist, bei denen aber stets eine strenge Dosis-Wirkungsbeziehung, besonders am Versuchstier festgestellt werden kann. Hierunter fallen z. B. Hemmung der Phagozytosefähigkeit der Leukozyten, Hemmung des Wachstums von Gewebekulturen, vaskulär-neurogene Blutungsneigungen nach Penicillin, degenerative Wirkungen auf den N. octavus, Wirkung auf die Nieren, Reizwirkungen auf Meningen und diverse Gehirnzentren bei Streptomycin, Reizwirkungen auf Gefäßwandungen, Schleimhäute, Meningen und Leberschädigungen bei Mensch und Versuchstier nach Anwendung von Terramycin, Aureomycin und Chloromycetin. Des weiteren muß auch eine neuromuskulär-blockierende Eigenschaft der Antibiotika hierzu gerechnet werden, wie sie von LODER und WALKER (57) im Falle des Streptomycins, dessen muskelrelaxierende Wirkung sich durch Neostigmin beheben ließ, festgestellt worden ist. Die Wirkung erwies sich am isolierten Nerv-Muskelpreparat ähnlich der Wirkung des d-Tubocurarin, durch welches noch eine Verstärkung im Sinne eines synergistischen Effektes eintrat (99, 10, 11). Ca-Ionen oder Neostigmin verhinderten auch hier diese Wirkung.

Diese Erscheinungen wurden in Versuchen von REUTER (78) als Stabilisationsblock an der Muskelendplatte gedeutet, der bei der Anwendung von Neomycin, Streptomycin, Dihydrostreptomycin, Kanamycin und Polymyxin-B auftrat, mit d-Tubocurarin eine additive Wirkung zeigte und durch Acetylcholin verhindert bzw. aufgehoben werden konnte.

Sekundäre Nebenwirkungen der Antibiotika, d. h. allergische Nebenwirkungen entweder durch direkte Sensibilisierung oder Gruppenallergie oder durch Überempfindlichkeit gegen Zusatzstoffe treten bei allen Antibiotika mehr oder minder häufig auf, sind bei verschiedenen Antibiotika weitgehend ähnlich und nicht proportional der Dosis, wobei die Erscheinungen an den Erfolgsorganen sehr mannigfaltig sein können. So finden sich z. B. an der Haut häufig Exantheme, Dermatitisen, Purpura und urticarielle Effloreszenzen. An den Schleimhäuten äußert sich das Auftreten von Allergie in jeder Form von Reizung oder Entzündung (Glossitis, Rhinitis, Pharyngitis usw.). Ebenso wird das vermehrte Vorkommen anaphylaktischer Schocks mit beschriebenen Todesfäl-

len, sowie das gehäufte Vorkommen von Periarteriitis nodosa nach Einführung der Antibiotika auf allergische Nebenwirkungen zurückgeführt.

Tertiäre Nebenwirkungen ergeben sich aus der Beeinflussung der Krankheitserreger. So z. B. in Form der Jarisch-Herxheimer'schen Reaktion, die durch das schlagartige Freiwerden toxischer Substanzen beim schnellen Abtöten der Erreger ausgelöst wird und in deren Verlauf es oft zu tödlichem Kreislaufkollaps, profusen Diarrhoen, rascher Entstehung von Meteorismus, psychischen Symptomen und Temperatur- und Blutdrucksturz kommen kann. Gleichfalls zu den tertiären Nebenwirkungen muß auch die durch zu frühen Erregerschwund bedingte fehlende Immunitätsbildung des Organismus gerechnet werden, woraus ein ungenügender Schutz gegen Reinfektionen resultiert.

Der Sinn der Antibiotika ist die Beseitigung der Krankheitserreger. Ideal wäre ein Antibiotikum, das nur den pathogenen Erreger erfaßt. Da aber vielfach in neuerer Zeit Antibiotika mit breitem Wirkungsspektrum angewendet werden, kommt es ebenfalls zur Schädigung anderer im Organismus vorhandener Keime. Es gehören deshalb solche Nebenwirkungen, die sich durch Verschiebungen des Gleichgewichtes der mikrobiellen Flora erklären lassen gleichfalls zu den tertiären Nebenwirkungen. Auch kann es durch die indikationsmäßige Beseitigung der Krankheitserreger zum Überwuchern mit unempfindlichen Mikroorganismen kommen, die vorher keine pathogene Bedeutung besaßen. Ein derartiger Erregerwechsel kann sich besonders gefährlich auswirken, wenn diese sekundäre Besiedlung durch resistente Hospitalstämme, insbesondere *Staph. aureus*, erfolgt. So berichtet RENTCHNIK (77) über 42 Fälle von einer tödlich verlaufenen Superinfektion des Darmes mit resistenten Staphylokokken nach Behandlung mit Breitspektrum-Antibiotika. Das Syndrom derartiger Superinfektionen besteht aus choleraartigen Durchfällen mit schwerer Wasserverarmung, ängstlicher Unruhe, Hypo- oder Hyperthermie, Facies terrestris und Kollaps. Im Stuhl fehlen die Colibakterien, dagegen waren besonders *B. proteus* und *Staph. aureus* nachweisbar. Pathologisch-anatomisch fand sich eine diphteroide, pseudomembranöse Enterocolitis. Die Auslösung derartiger Erscheinungen beruht wahrscheinlich auf einem toxischen Produkt der Staphylokokken von recht einfacher thermostabiler und nicht antigenem chemischer Struktur (23).

Jedoch herrscht über das Bild noch keine restlose Klarheit, da die Entstehung des Enterotoxins nicht durch die Auflösung von Bakterienzellen erklärt werden kann, da der *Staph. aureus* resistent ist und außerdem nicht alle Superinfektionen mit *Staph. aureus* das gleiche Bild erzeugen. Schließlich ist zu den tertiären Nebenwirkungen der Antibiotika noch das gehäufte Auftreten der nicht antibiotikaempfindlichen Pilze zu zählen. Allerdings sind die Möglichkeiten, die bei der Entwicklung einer Pilzerkrankung durch Antibiotika eine Rolle spielen können, nicht allein auf die tertiären Nebenwirkungen beschränkt. Lediglich die Unterdrückung der Kollektivflora und die dadurch bedingten Änderungen der physiko-chemischen Wachstumsbedingungen sind hierbei tertiäre Nebenwirkungen, während die nachgewiesene direkte Wachstumsstimulierung der Pilze sowie die Änderung der Geweberesistenz durch das Antibiotikum anderen Mechanismen zugeordnet werden müssen (20).

POSTANTIBIOTISCHE ENTEROCOLITIS

Da die Aufgliederung des Komplexes der Antibiotikanebenwirkungen im vorangehenden Kapitel erst das Ergebnis neuerer Untersuchungen darstellt, ist es verständlich, daß besonders die Einordnung intestinaler antibiotischer Komplikationen Schwierigkeiten bereitet und noch bereitet. So sind die Meinungen besonders über die postantibiotische Enteritis und Colitis, deren klinische Häufigkeit von FINLAND und WEINSTEIN (19) mit 5 % für Achromycin, 10 % für Aureomycin und 19 % für Terramycin angegeben wird, stark different, zumal auch die Genese der sonst auftretenden Enterocolitiden ohne vorausgegangene Antibiotikaapplikation sehr mannigfaltig sein kann. Als Ursachen kommen in Frage: Änderung des Magenmechanismus, Änderung der physiologischen Darmflora, Gärungsprozesse, peritoneale und retroperitoneale Haematome, vegetativ-nervöse Darmstörungen, Röntgenstrahlen, Toxine, Erschütterung des Rückenmarkes, Commoti cerebri usw. (52), in deren Folge es zu der pseudomembranösen Enterocolitis kommen kann. Die Entstehung der Enteritiden nach Antibiotika deutet HAGGENMÜLLER (31) folgendermaßen: Das Antibiotikum vernichte die Darmflora, wodurch es einerseits zur Resorption von Abbauprodukten und andererseits zur Nichtresorption von gewissen Vitaminen käme, die an das Vorhandensein von Bakterien gebunden seien. SCHOLZ (88) erklärt die Enterocolitis nach Antibiotika, wie auch nach Operationen, als ein allergisches Geschehen, bei dem standortfremde Bakterien von sekundärer Bedeutung seien. TONUTTI und MATZNER (100) nehmen als Ursache der postantibiotischen Enterocolitis eine neural ausgelöste diffuse Schädigung des gesamten Kapillarapparates der Darmwand durch das Antibiotikum an und BOHN und KOCH (8) führen ebenfalls das Zustandekommen einer postantibiotischen Enterocolitis durch umfangreiche Tierexperimente auf die cerebral-toxische Wirkung, speziell des Penicillins zurück, die dann zum Kreislaufversagen führe. Erst in letzter Zeit beschrieb KUEMMERLE (52) wieder endogene Superinfektionen mit resistenten Toxinbildnern, wie Staphylokokken, Proteus-Arten, Colibakterien, Aerogenes, denen er die wichtigste aetiologische Rolle zukommen läßt, nachdem bereits 1954 WALTER und HEILMEYER (104) auf die Möglichkeit schwerer gastrointestinaler bzw. toxischer Symptome durch Überwuchern enterotoxinbildender Staphylokokken hingewiesen haben. Daneben werden vielfach noch andere Faktoren, wie Schädigung des Darmepithels (42) und Störung des Regulationsmechanismus der Darmflora durch das Antibiotikum vermutet (73), deren objektiver Nachweis außerordentlich schwierig ist, da auch hier die primäre und sekundäre Wirkung von der tertiären nicht getrennt werden kann.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß nach Anwendung antibiotischer Substanzen es häufig schon nach wenigen Tagen zum Auftreten einer pseudomembranösen Enterocolitis oft mit letalem Ausgang kommt (45, 77), deren pathologisch-anatomisches Bild dem Bild einer postoperativen Enterocolitis entspricht, wobei bakteriologisch meist eine eingetretene Keimverschiebung zugunsten resistenter Bakterienstämme festgestellt werden kann (97).

Auf die Toxizität verschiedener Antibiotika in der pharmakologischen Testung ist wiederholt hingewiesen worden. So sprechen SCHOENBACH und Mitarbeiter (87) beim Terramycin von einer lokalen Toxizität, durch die beim Spritzen einer 3%igen Lösung wahrscheinlich infolge stark sauren pH's Nekrosen hervorgerufen werden, von einer akuten Toxizität, bei der 50 % der Versuchstiere (LD_{50} für Mäuse) am 1.—4. Tag unter ZNS-Symptomen (Excitation, Krämpfe, Atemstillstand, Blutdruckabfall) starben und die bei der Maus für Oxytetracyclin-Hydrochlorid über 175 mg/kg liegt, sowie einer akuten Letaldosis, bei der es sofort zu einer generalisierten Muskellähmung und Atemstillstand kommt, die für Oxytetracyclin-Hydrochlorid 600–650 mg/kg beträgt. SCHOENBACH und Mitarbeiter geben nach klinischer Prüfung der Resorptionsfähigkeit, Kumulation und Exkretion die therapeutische Dosis für den Menschen mit 100 mg/kg/Tag an. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen P'AN und Mitarbeiter (70), welche die unterschiedlichen Letaldosen von Oxytetracyclin (Terramycin), Oxytetracyclin-Hydrochlorid, Oxytetracyclin-Natrium und Oxytetracyclin-Sulfat an Mäusen, Ratten, Hunden und Katzen, bei subcutaner, peroraler und intravenöser Applikationsweise bestimmten. Für Oxytetracyclin-Hydrochlorid beträgt sie bei einmaliger i. v.-Gabe für Mäuse 192 mg/kg und für Ratten 280 mg/kg; bei der p. a.-Applikation liegen die Werte für beide Tierarten bei 7200 mg/kg und bei s. c.-Applikation bei 892 mg/kg. Terramycin wird im Darm gut resorbiert (87) und zeigt keine Wirkung am isolierten Darmmuskel, auf den Blutzuckerspiegel und den Blutdruck. Jedoch wurde bei Ratten nach einmaliger Applikation von 200 mg/kg eine 6stündige Diurese beobachtet, wobei das 6-Stunden-Volumen des Urins um 89–104 % gesteigert wurde.

SEDWITZ und Mitarbeiter (93) studierten die Terramycin-Toxizität an Hunden, wobei sie feststellten, daß bei einer einmaligen Dosis von 220 mg/kg i. v. nach 30 Min. Atemstillstand und 5. Min. später Herzstillstand eintrat. Eine Dosis von ca. 50 mg/kg i. v. hatte bei allen Hunden Appetitlosigkeit, Lethargie, Gewichtsverlust zur Folge, wobei 1 Hund von 5 am 5. Tage starb. Bemerkenswert ist, daß dieses Tier keine Oligurie zeigte. Bei der Testung der chronischen Toxizität mit verschiedenen hohen Dosen von 25–145 mg/kg tgl. i. v. bis zu einer Gesamtdosis von ca. 2 g ergaben sich unterschiedliche Überlebenszeiten, die nicht von der Gesamtdosis sondern von der Tagesdosis abhängig zu sein schienen. Sämtliche Tiere zeigten einen rapiden Rest-N-Anstieg, an dem der Blutharnstoff-Stickstoff nicht allein, sondern stets mit ungefähr gleichbleibenden prozentualen Anteilen beteiligt war. Da sich zu dem kein charakteristischer pathologisch-mikroskopischer Befund erheben ließ, deutete man diese Erscheinungen als Nieren- oder System-Toxizität (93).

Als besonders stark empfindlich gegenüber Antibiotika erwies sich das Meerschweinchen, wobei im Falle des Penicillins AMBRUS und Mitarbeiter (1) eine allergische Reaktion, MIESCHER und BÖHM (60) eine gefäßtoxische, GERNEZ-RIEUX und Mitarbeiter (24) eine zytotoxische und TONUTTI und MATZNER (100) eine neurotoxische Wirkung annehmen, während ROLLE und MAYER (80), RUSCHMANN (83), DE SOMER (12) und EYSEN (17) die toxische Wirkung des

Penicillin durch die Veränderung innerhalb der Darmflora erklären, und zwar schuldigen ROLLE und MAYER die Vertreibung der grampositiven Symbionten aus dem Darm und Überwiegen von *Strept. faecalis* für die deprimierende Wirkung des Penicillin auf den Gewichtsverlauf des Meerschweinchens an, die nachließ, nachdem die grampositiven Symbionten resistent geworden waren. RUSCHMANN deutete dagegen das Auftauchen normalerweise sehr wenig vorhandener Colibakterien im Darm des Meerschweinchens und deren Endotoxin-Wirkung als ausschlaggebend für das toxische Bild, zumal die Erscheinungen, die sich durch gleichzeitige Streptomycin-Gaben unterdrücken ließen, erst auftraten, als kein Penicillin mehr im Körper vorhanden war. Für die Annahme spricht, daß durch eine Erhöhung der Dosis die Überlebenszeit der Tiere von 3—5 Tagen nicht verkürzt wird und die Tiere bei einer Resistenzsteigerung ihrer grampositiven Darmkeime am Leben bleiben. Unterschiede in der Wirkung auf andere Versuchstiere (Mäuse, Ratten) deutet RUSCHMANN dadurch, daß diese gegenüber dem angeschuldigten Coli-Endotoxin nicht so empfindlich sind (83). DE SOMER (12) und EYSEN (17) sahen gleichartige Toxizitätserscheinungen beim Meerschweinchen nach peroraler Applikation von Penicillin, Erythromycin, Dihydrostreptomycin, Spiramycin, Chloramphenicol und Bacitracin, wobei die coliwirksamen Präparate, sowie das nicht resorbierbare Bacitracin sich gleich verhielten. Für den Tod der Meerschweinchen machen sie den plötzlichen Keimwechsel innerhalb der Darmflora, in dessen Folge es zu physiko-chemischen Veränderungen, Permeabilitätsstörungen der Darmkapillaren, zu Flüssigkeits- und Salzverlust in den eigenen Darm und dadurch zu einer Verschiebung des Säure-Basen und Elektrolyt-Gleichgewichtes kommt, verantwortlich, so daß die Tiere schließlich an einer Acidose, Hypokaliämie zugrunde gehen. Wenn der Wechsel der Darmflora jedoch langsam vor sich geht oder sich eine Resistenz der normalen Darmflora ausbildet, ist dies ein Schutz gegen provokatorische, normalerweise letale Dosen, die sonst einen „intestinalen Schock“ verursachen.

BOHN und KOCH (8) nehmen eine Cerebral-Toxizität des Penicillins an, weil bei einer intrathecalen Applikation wesentlich geringere Penicillinmengen zur Auslösung der toxischen Erscheinungen notwendig sind als bei der intracardialen oder intracarotischen. Sie schließen deshalb auf das Bestehen einer Blut-Liquor-Schranke gegenüber dem Penicillin, die bei bestimmten Erkrankungen (Neuro-Lues, Agranulozytose, perakuter Sepsis, schwerer Pneumonie) stark geschädigt ist, so daß dann schon geringe intramuskulär verabreichte Penicillinmengen toxisch wirken. An Hand umfangreicher Tierversuche wiesen sie einen fermentartigen Stoff mit Penicillinase-artigem Verhalten im Gehirn von Mensch, Ratte und Kaninchen nach, der jedoch beim Meerschweinchen völlig fehlen soll, wodurch sie dessen höhere Penicillin-Empfindlichkeit erklären. Ihre quantitativen Penicillin-Hirnspiegel-Untersuchungen ergaben, daß unabhängig von der Applikationsart erst das Überschreiten eines ganz bestimmten Penicillin-Schwellenwertes im Hirngewebe für das Auftreten der toxischen Erscheinungen in Form der Enterocolitis maßgebend ist. Bei Nichterreichen dieses Schwellenwertes im Hirngewebe treten nach ihren Angaben keine toxischen Erscheinungen und auch keine Änderung der Darmflora auf, selbst

wenn das Penicillin bei laparotomierten Meerschweinchen in wechselnd hohen Dosen in das Lumen der oberen Dünndarmabschnitte injiziert wird. Ihre Untersuchungen, die auf die Feststellungen von TONUTTI und MATZNER (100) zurückgehen, welche die Enterocolitis nach protrahierten Penicillin-Intoxikationen beim Meerschweinchen als neural-ausgelöste, akute, diffuse Schädigung des gesamten Kapillar-Apparates der Darmwand durch das Antibiotikum ansehen und in deren chronischen Verlauf es erst sekundär zu einer Änderung der Darmflora kommen soll, erstreckten sich auch auf die Tetracycline, deren Intoxikationen, die in Form von haemorrhagischen Diathesen an den Schleimhäuten insbesondere des Darmes in Erscheinung treten und sich als blutige Enterocolitis äußern können, klinischerseits auf eine durch das Antibiotikum bedingte Schädigung der Darmflora zurückgeführt werden. BOHN und KOCH erklären diese Schlußfolgerung als nicht zutreffend, wobei sie von den Überlegungen ausgehen, daß man Gesunde sowie leistungsfähige Kranke über viele Monate, ja sogar Jahre, mit Terramycin p. o. behandeln kann, ohne daß die gefürchtete Enterocolitis auftritt oder sich eine durchweg pathogene Darmflora einstellt. Selbst in den Fällen mit deutlich veränderter Bakterienflora des Darmes, wie etwa Auftreten von resistenten Staphylokokken vertreten sie die Auffassung, daß die Ursache für das Auftreten der toxischen Erscheinungen nicht die Änderung der Darmflora sei, sondern diese könne erst auf dem Boden einer ernährungsgeschädigten Darmsekretion Platz ergreifen. Nach ihren Tierversuchen sehen BOHN und KOCH die Ursachen des Vergiftungsbildes nach Tetracyclinen, bestehend aus Schleimhaut- und Lungenblutungen, Enteritis sowie allgemeinen Krampferscheinungen in einer mangelnden Prothrombin-Faktor-VII-Bildung der Leber und in pH-bedingten Erscheinungen am peripheren Muskel durch Natriumglycinat, dem Lösungsmittel des Oxytetracyclins. Für die besondere Toxizität des Terramycin beim Meerschweinchen sei diesmal das Fehlen einer Blut-Leber-Schranke verantwortlich, die bei Mensch und Ratte vorhanden, jedoch bei der Ratte durch Tetrachlorkohlenstoff so geschädigt werden könne, daß es zu den gleichen Vergiftungserscheinungen wie beim Meerschweinchen kommt. Auch wäre diese Blut-Leber-Schranke beim leberkranken Menschen nicht vorhanden, bei welchem sich Terramycin in der Galle nachweisen läßt, was beim Gesunden nicht der Fall sei.

Die Befunde von BOHN und KOCH über eine Pencillinase im Hirn von Ratten, die beim Meerschweinchen fehle, konnten STOKLASKA und ZISCHKA nicht bestätigen (98). Nach ihren Untersuchungen beruht die Toxizität der Pencillinester (Diäthylaminoäthanolbenzylpenicillin = „Pulmo 500“), welche BOHN und KOCH auf eine leichtere Passierbarkeit der Blut-Hirn-Schranke zurückführen, auf einer cerebralen Toxizität des Diäthylaminoäthanol-Anteils, die jedoch nur bei intravenöser Applikation auftritt. Da aber alle anderen Applikationsarten, auch von reinem Penicillin i. v., erst nach einem Intervall von 3—8 Tagen zum Tode führen, schließen sie sich der Meinung von DE SOMER und EYSEN an, die den Untergang der grampositiven Flora für die Toxizität des Penicillins verantwortlich machen. Dadurch wirke das Penicillin nicht bei allen Laboratoriumstieren einheitlich, sondern zeige bei Mäusen in

allen Applikations-Arten eine dosisabhängige zentralerregende Wirkung, die beim Meerschweinchen vielleicht auch vorhanden sei, aber von der viel stärkeren Wirkung über die Darmflora überdeckt würde, wodurch die toxische Dosis dort viel niedriger läge.

Allein aus diesen Überlegungen heraus erlauben auch die Versuche von BOHN und KOCH bezüglich der Terramycin-Toxizität eine andere Interpretation. Sicherlich nicht richtig sind die Behauptungen, daß beim gesunden Menschen keine Terramycin-Ausscheidung durch die Galle stattfindet, während sie beim Vorliegen einer Lebererkrankung vorhanden sein soll, welche BOHN und KOCH zum Beweis einer Lebertoxizität des Terramycin, die für das entstehende Toxizitätsbild ausschlaggebend sein soll, heranziehen. Untersuchungen von HEGEMANN und Mitarbeitern (40), sowie HEINEMANN und CARLSON (39) ergaben, daß eine gute Terramycin-Ausscheidung der Leber in die Galle beim Gesunden stattfindet, die dagegen beim Leberkranken wesentlich herabgesetzt sein kann. Davon abgesehen darf bei der Beurteilung der pharmakologischen Eigenschaften der Antibiotika der Einfluß auf die Keime der Darmflora, deren potentielle Gefährlichkeit für den Mikrobiologen eine Tatsache darstellt, keinesfalls unberücksichtigt bleiben, obwohl man ihn unter gewissen Umständen (eingetretene Resistenz aller Darmbakterien) vernachlässigen darf.

EXPERIMENTELLER TEIL

A. UNTERSUCHUNGEN ÜBER ANTIBIOTIKA-TOXIZITÄT

BEI MEERSCHWEINCHEN

DIE NORMALE MEERSCHWEINCHEN-DARMFLORE

Für Untersuchungen über Keimverschiebungen der Darmflora unter Antibiotika-Gaben ist die Kenntnis der normalen Keimverhältnisse im Darm der Meerschweinchen, sowie deren Schwankungsbreite unter normalen Umständen notwendig. Bekannt ist, daß das Meerschweinchen eine vorwiegend grampositive Darmflora besitzt (30, 43), und zwar prozentual ausgedrückt (12):

70 % Laktobakterien,

25 % Streptokokken,

3— 5 % andere grampositive und

0— 2 % gramnegative Bakterien,

wobei die Relation von Laktobakterien zu Streptokokken im Winter häufig zugunsten der Streptokokken verschoben ist (62, 75). Diese Flora soll auffallend konstant gegenüber oraler Verfütterung von Coli-Reinkulturen sein (12, 17).

EIGENE VERSUCHE

Für die Untersuchungen der Zusammensetzung der Darmflora wurden folgende Selektivnährböden verwendet:

I. Staphylokokken-Medium (37):

- 5,0 g Kaliumbichromat
- 1000,0 g Nähr-Agar

II. Streptokokken-Medium (37):

- 5 ml steriles Serum
- 2 ml Kristallviolett (2 mg auf 20 ml)
- 2 ml Natriumacid (100 mg auf 20 ml)
- 1000 g Nähr-Agar

III. Aerobier-Medium (37):

Fleischwasser-Agar

IV. Anaerobier-Medium (14):

- 29,3 g Thioglycollat-Medium
- 25,0 g Fadenagar
- 1000 ml Aqua dest.

V. Colibakterien-Medium:

a) (34):

- 10 g Laktose
- 8 mg Bromthymolblau
- 3 g NaCl
- 2 g Na_2HPO_4
- 1000 g Nähr-Agar

Nach dem Sterilisieren werden 8000 IE Penicillin und 40 mg Triphenyltetrazoliumchlorid (steril filtriert) zugesetzt.

b) Mc Conkey-Agar (14)

VI. Laktobakterien-Medium (15):

- 100 ml Aqua dest.
- 200 ml Milch
- 8 g Milchzucker
- 6 g Traubenzucker
- 3 g Witte-Pepton
- 0,5 ml Milchsäure
- Kochen und Filtrieren
- 300 ml Filtrat
- 3 ml 10 %ige Tween-80-Lösung
- 30 mg Natriumacid
- 6 g Faden-Agar

Sterilisieren u. pH-Einstellung mit Milchsäure auf 4,6–4,8
Vor der Verwendung werden auf 20 ml zugesetzt:

- 0,6 ml Lackmus-Lsg.
- 1 gt Kongorot-Lsg. (1%ig, wäbrig, steril)
- 1 gt Methylorange-Lsg (1%ig, alkoholisch)
- 1 gt Methylenblau (Löffler, ausgekocht)

FrISChe Stuhlproben von 10 Merschweinchen (250—280 g) wurden in verschiedenen Verdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung auf Selektivnährböden aufgebracht. Nach Auszählung und Umrechnung der gewachsenen Kolonien auf 1 g Stuhl ergaben sich für Staphylokokken, Streptokokken, Colibakterien und Laktobakterien die aus Tabelle I zu entnehmenden Keimzahlen. Die Werte stellen das arithmetische Mittel aus 5 aufeinanderfolgenden Untersuchungen im Abstand von je 3 Tagen dar. Auf eine statistische Sicherung der Ergebnisse wurde verzichtet, weil exakte quantitative Angaben keine größere Aussagemöglichkeit gestatten und nur eklatante Änderungen zur Beurteilung herangezogen werden können. Hinzu kommt, daß jede Stuhluntersuchung nur die Verhältnisse des Dickdarmes widerspiegelt und keine bindenden Aussagen über die Keimverhältnisse im Gesamtdarmtrakt zuläßt. Von einer Wiedergabe der aeroben und anaeroben „Gesamtkeimzahl“ wurde ebenfalls Abstand genommen, weil auf einem Universal-Medium stets die schnell wachsenden Keime dominieren.

TABELLE I

Mittlere Keimzahlen in 1 g Meerschweinchenkot aus 5 Untersuchungen pro Tier im Abstand von je 3 Tagen:

	1.	2.	3.	4.	5.
Staphylokokken:	100 000	150 000	100 000	100 000	80 000
Streptokokken:	50 000	100 000	150 000	50 000	50 000
Colibakterien:	<1 000	<1 000	<1 000	<1 000	<1 000
Laktobakterien:	120·10 ⁶	230·10 ⁶	1,2·10 ⁹	1,1·10 ⁹	560·10 ⁶
	6.	7.	8.	9.	10.
Staphylokokken:	50 000	100 000	80 000	50 000	50 000
Streptokokken:	100 000	30 000	60 000	60 000	100 000
Colibakterien:	<1 000	0	<1 000	0	0
Laktobakterien:	370·10 ⁶	920·10 ⁶	400·10 ⁶	1,4·10 ⁹	1,2·10 ⁹

ERGEBNISSE

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, treten innerhalb der aufgeführten Keimgruppen von Tier zu Tier erhebliche Keim schwankungen auf. Den überwiegenden Anteil stellten stets die Laktobakterien. *Bact. coli* war nur bei einigen Tieren feststellbar.

In der Tabelle nicht aufgeführte Pilze (Hefen) waren qualitativ fast immer nachweisbar

Gleiche Untersuchungen wurden auch an 5 weiteren Tieren gleicher Größe und gleichen Gewichtes 2—5 cm oberhalb der Ileocaecal-Klappe durchgeführt. Hier waren nur Laktobakterien, Milchsäurestreptokokken und auch Enterokok-

ken in wechselnder Zahl vorhanden, wobei die Laktobakterien stets dominierten. Der Nachweis von Colibakterien in diesem Darmabschnitt gelang in keinem Fall.

TERRAMYCIN-FUTTERUNG

Dieselbe Gruppe von 10 Meerschweinchen (260—320 g) erhielten 12 Tage lang 1 mal täglich peroral 10 mg reines, kristallines Oxytetracyclin-Hydrochlorid (PFIZER) in 2 ml Aqua dest. gelöst pro Tier. Diese Dosis zeigte in Vorversuchen keine Unterschiede bezüglich Überlebenszeit der Tiere gegenüber Dosen von 20, 50, 100 mg p. o.

Untersucht wurden Gewichtsverläufe und Überlebenszeiten (a), Keimverteilungen im Stuhl (b), Resistenz der Keime (c) und Toxizitätsbild (d).

ERGEBNISSE

a) **Gewichtsverläufe und Überlebenszeiten**

Die Tiere hatten am 5. Tag der Terramycin-Applikation durchschnittlich 16,44% ihres Ausgangsgewichtes verloren und starben unter einem durchschnittlichen Gewichtsverlust am Todestag von 29,40% am 6. (1 Tier), 7. (1 Tier), 9. (4 Tiere), 10. Tag (1 Tier) und 2 Tiere am 14. Tag, also 2 Tage nach Beendigung der Terramycin-Applikation. Ein Tier überlebte diese Behandlung trotz eines Gewichtsverlustes von 19,60% innerhalb von 5 Tagen, von dem es sich aber wieder erholte und die Gewichtskurve anstieg (s. Gewichtskurve Darstellung 1 und Diagramm A).

b) **Keimverschiebungen**

Am 3. Tag nach Beginn der Terramycin-Applikation ergab die bakteriologische Stuhluntersuchung nach oben beschriebener Methodik (s. Tab. II):

1. Rückgang der Staphylokokken,
2. Rückgang der Streptokokken,
3. starke Vermehrung von *E. coli* und coliformen Keimen sowie
4. starke Verminderung der Laktobakterien.

DARSTELLUNG 1

Gewichtsverlauf der Meerschweinchen vor und unter der Terramycin-Behandlung bis zum Eintritt des Todes (+).

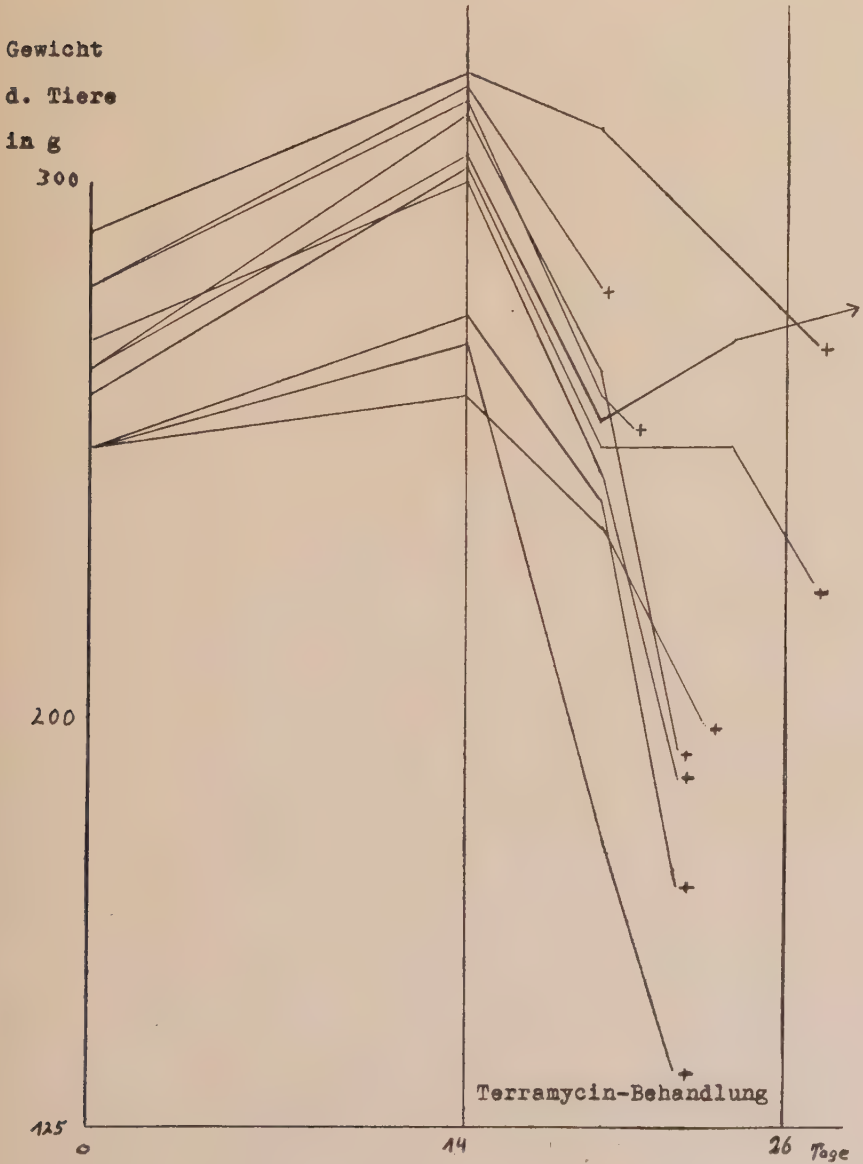


TABELLE II

Mittlere Keimzahlen pro Gramm Kot aus je 3 Untersuchungen pro Tier nach 3tägiger peroraler Terramycin-Applikation:

	1.	2.	3.	4.	5.
Staphylokokken:	50 000	<1 000	10 000	4 000	<1 000
Streptokokken:	5 000	230 000*	10 000	10 000	450 000*
Colibakterien:	420·10 ⁶	850·10 ⁶	240·10 ⁶	190·10 ⁶	1,2·10 ⁹
Laktobakterien:	<1 000	<1 000	<1 000	<1 000	<1 000

	6.	7.	8.	9.	10.
Staphylokokken:	<1 000	<1 000	10 000	<1 000	10 000
Streptokokken:	5 000	250 000*	<1 000	5 000	<1 000
Colibakterien:	1,4·10 ⁹	1,0·10 ⁹	860·10 ⁶	310·10 ⁶	1,1·10 ⁹
Laktobakterien:	50 000	<1 000	100 000	<1 000	<1 000

* = Terramycin-resistente Enterokokken

Die Fortführung der Terramycin-Applikation veränderte am 5. Tag das Bild folgendermaßen (s. Tabelle III):

1. Anstieg der Staphylokokken über den Ausgangswert,
2. starkes Auftreten von Enterokokken,
3. weitere Vermehrung der Colibakterien,
4. fast völliges Fehlen der Laktobakterien und
5. qualitativ häufiger anzutreffende Hefen und Bact. proteus.

TABELLE III

Mittlere Keimzahlen in 1 Gramm Kot aus je 3 Stuhluntersuchungen pro Tier nach 5tägiger peroraler Terramycin-Applikation:

	1.	2.	3.	4.	5.
Staphylokokken:	410 000	240 000	170 000	200 000	22 000
Streptokokken*:	620·10 ⁶	480·10 ⁶	2,3·10 ⁹	1,1·10 ⁹	510·10 ⁶
Colibakterien:	2,0·10 ⁹	1,3·10 ⁹	560·10 ⁶	1,0·10 ⁹	1,3·10 ⁹
Laktobakterien:	<1 000	<1 000	<1 000	<1 000	<1 000

	6.	7.	8.	9.	10.
Staphylokokken:	160 000	80 000	200 000	110 000	70 000
Streptokokken*:	740·10 ⁶	320·10 ⁶	370·10 ⁶	160·10 ⁶	730·10 ⁶
Colibakterien:	830·10 ⁶	4,2·10 ⁹	2,2·10 ⁹	1,6·10 ⁹	1,9·10 ⁹
Laktobakterien:	<1 000	<1 000	<1 000	<1 000	<1 000

Nach 8tägiger Terramycin-Applikation traten weitere Verschiebungen innerhalb der Darmflora auf (s. Tab. IV):

1. Die Staphylokokken bleiben konstant vermehrt,
2. die Enterokokken- und Colibakterien-Zahlen steigen weiter an,
3. die Laktobakterien, außer bei Tier 4, fehlen (s. Tab. IV) und
4. gehäuftes Auftreten von Hefen sowie *Bact. proteus*.

TABELLE IV

Mittlere Keimzahlen pro Gramm Kot aus je 3 Stuhluntersuchungen pro Tier nach 8tägiger peroraler Terramycin-Applikation:

	1.	2.	3.	4.	5.
Staphylokokken:		220 000	200 000	190 000	
Streptokokken*:		$520 \cdot 10^6$	$660 \cdot 10^6$	$1,3 \cdot 10^9$	
Colibakterien:	**	$2,6 \cdot 10^9$	$1,1 \cdot 10^9$	$1,2 \cdot 10^9$	**
Laktobakterien:		kulturell nicht nachweisbar		8 000***	
	6.	7.	8.	9.	10.
Staphylokokken:	150 000	110 000	180 000	120 000	50 000
Streptokokken*:	$450 \cdot 10^6$	$330 \cdot 10^6$	$600 \cdot 10^6$	$380 \cdot 10^6$	$900 \cdot 10^6$
Colibakterien:	$700 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^9$	$2,9 \cdot 10^9$	$1,4 \cdot 10^9$	$820 \cdot 10^6$
Laktobakterien:		kulturell nicht nachweisbar			

* = Terramycin-resistente Enterokokken

** = bereits gestorbene Tiere

*** = dieses Tier überlebte die Terramycin-Applikation

c) Resistenzbestimmungen

Von Interesse war, ob sich während der Terramycin-Applikation innerhalb der einzelnen Keimgruppen eine zunehmende Resistenz ausbildete, die in vitro durch eine Abnahme der Wachstums hemmung zum Ausdruck kam. Da nur das Prinzipielle dieser Frage von Wichtigkeit ist, wurde auf eine Feststellung der effektiven Antibiotika-Empfindlichkeit der Keime verzichtet. Um jedoch ein Vergleichsmaß zu haben, wurde stets der *Staph. aureus*-Stamm SG 511 mitgeprüft, dessen Antibiotika-Empfindlichkeit konstant ist. Nach ihrer Selektivierung wurden die gefundenen Darmbakterien im Agar-Diffusionstest (5%iger Blutagar) gegen 200 γ Terramycin/ml getestet, wobei für sämtliche Versuche die gleiche Agar-Charge verwendet wurde (25).

ERGEBNISSE

TABELLE V

Terramycin-Empfindlichkeit von Stuhlkeimen während der Terramycin-Applikation. Gemessen im Agar-Diffusionstest in mm vom Einfüllrand bis zum Rande der Wachstumszone bei einer Terramycin-Konzentration von 200 γ /ml.

	Ausgangs- werte	3. Tag	5. Tag	8. Tag
Staph. albus	14	10	6	2
Enterokokken	12	4	Keine Hemmung	
Streptokokken (vergr.)	12	8	Keine Hemmung	
Colibakterien	10	6	Keine Hemmung	
Laktobakterien	18	17	16	kulturell nicht nachweisbar*

Micrococcus pyogenes var. *aureus* SG 511 = 16

* = Bei einem Tier (s. Tab. IV, Tier 4) nach 8tägiger Terramycin-Applikation Nachweis von resistenten Laktobakterien.

d) Das Toxizitätsbild

Nach DE SOMER (12) und FISCHER (20) besteht prinzipiell ein ähnliches Toxizitätsbild für alle Antibiotika. Nach einem Intervall von 3—8 Tagen sterben die Tiere an einer Enteritis und Kachexie. Bei der Sektion imponieren häufig ein blutiges Abdomen, hämorrhagische Ergüsse, maximal dilatierte Gefäße und Petechien der Darmwand.

In den eigenen Tierversuchen kam es nach einem Intervall von 6—10 Tagen bzw. 14 Tagen seit Beginn der Terramycin-Applikation, in dem die Tiere sehr wenig Nahrung zu sich nahmen, wobei eine gesteigerte Diurese sowie Darmblähung mit Flüssigkeitsansammlung im Darmlumen eintraten, sich jedoch niemals Durchfälle einstellten, sondern der Feuchtigkeitsgehalt des Stuhles sogar stark vermindert war, zu Atemkrämpfen und generalisierten Muskellähmungen, so daß der Tod rasch erfolgte.

Makroskopisch fiel bei der Sektion sofort eine stärkere Durchblutung der Darmwandgefäße auf, welche die Vermutung einer Enteritis nahe legte. Häufig fand sich in der freien Bauchhöhle ein klarer Ascites, jedoch keine peritonealen Reizerscheinungen. Die Gallenblase war stets prall gefüllt und der bereits geformte Kot des Enddarmes sehr trocken, während sich im Dünndarm und besonders im Caecum reichlich, teilweise blutige Flüssigkeit vorfand. Der makroskopische Befund der übrigen Organe war ohne Besonderheiten. Mikroskopisch fand sich eine maximale Kapillarerweiterung der Gefäße des Dünndarmes und des Caecum, ohne daß der Nachweis einer Enteritis im pathologisch-anatomischen Sinne geführt werden konnte. Eine derartige Erweiterung der Gefäße war im ganzen Gebiet der inneren Organe, bes. Lunge, Leber und Nieren, feststellbar. Teilweise waren Kapillaren der Schleimhautoberfläche des Darmes geplatzt, so daß sich Blut in das Darmlumen ergießen konnte. Schädigungen des Schleimhautepithels konnten nicht festgestellt werden.

Bakteriologisch fanden sich in den Dünndarmabschnitten, wo sonst eine Laktobakterien-Flora anzutreffen war, stets massenhaft *E. coli*, coliforme Keime und manchmal auch vermehrt Enterokokken. Diese „aufgewanderten“ Keime waren stets gegenüber dem verwendeten Antibiotikum resistent. Im Agar-Diffusionstest zeigten sie gegenüber einer Konzentration von 200 γ /ml Terramycin keine Wachstumshemmung. Vor Beginn des Versuches

war keine Terramycin-Resistenz vorhanden, wie im vorangegangenen Kapitel an Stuhlkeimen nachgewiesen wurde.

Laktobakterien waren im Dünndarm kulturell nicht erfaßbar, dagegen häufig Hefen, *Bact. proteus* und Sporenbildner, die allerdings gegenüber den vorherrschenden *E. coli* in keinem prozentual ausdrückbaren Verhältnis standen.

Blutkulturen aus dem durch Punktion gewonnenen Herzblut während des Auftretens toxischer Symptome sowie kurz nach dem Todeseintritt waren stets steril.

BACITRACIN-FÜTTERUNG

Eine Gruppe von 10 Meerschweinchen (250—280 g) erhielten 1 mal tgl. 10 mg Bacitracin (Reinsubstanz) gelöst in 2 ml Wasser pro Tier per os. Auch hier zeigte in Vorversuchen diese Dosis keine Unterschiede in den Überlebenszeiten gegenüber Dosen von 20 und 50 mg bei tgl. peroraler Verabreichung. Diese Dosen sind sehr gering gegenüber den Angaben der Letaldosen im Handbook of Toxicology Vol. II, Antibiotics für andere Tierarten. So beträgt die i. v. LD₅₀ bei Mäusen 360 mg/kg (etwa 7500 E); die i. p. LD₅₀ 200—650 mg/kg (etwa 7500—15 000 E); die subkutane LD₅₀ 1300—2500 mg/kg (31 000—52 000 E) und per os wurden 3700 mg/kg (131 000 E) vertragen. Für Ratten wird die i. p. LD₅₀ mit 190 mg/kg (6700 E) angegeben. Für Kaninchen liegt sie bei 50 000 E/kg und für Hunde bei mehr als 400 000 E/kg (71, 90, 91). Hieraus ist zu ersehen, daß die „Toxizität“ des Bacitracin bei Meerschweinchen unvergleichlich hoch ist, was zur Klärung unserer Fragestellung von besonderem Interesse war, weil die Resorption des Bacitracin nach peroraler Applikation höchstens 4 % betragen soll (92).

ERGEBNISSE

Die Tiere starben am 3. (2 Tiere), 4. (1 Tier), 5. (3 Tiere), 6. (1 Tier), 7. (2 Tiere) und das letzte am 10. Tag (s. Diagramm B).

Die durchschnittliche Überlebenszeit lag hier also bei 5—6 Tagen. Der Gewichtsverlust am Sterbetag betrug im Mittel 20,12 %.

Das Toxizitätsbild ähnelte sehr stark dem des Terramycin, denn auch hier waren Darmblähung und Flüssigkeitsansammlungen im Darmlumen deutlich feststellbar, desgleichen eine gesteigerte Diurese, auf deren Objektivierung jedoch auch hier verzichtet wurde. Zu Diarrhoen kam es nicht. Der Tod selbst trat unter den gleichen äußeren Erscheinungen, in Form von Atemkrämpfen und generalisierter Muskellähmung, wie beim Terramycin ein. Ebenfalls zeigten makroskopischer und mikroskopischer Befund der seziierten Tiere keine Unterschiede zu dem der Terramycin-gefütterten Tiere.

Bakteriologisch beherrschten *E. coli* und coliforme Keime das Bild des Rectal-Abstriches und der unteren Dünndarmabschnitte derart, daß auf eine Analyse der Keimverteilungen verzichtet werden konnte.

DISKUSSION BISHERIGER ERGEBNISSE

IN VERBINDUNG MIT ERGÄNZUNGSVERSUCHEN

Die Tatsache, daß die Überlebenszeit der Tiere durch hohe Dosen gegenüber niederen nicht verkürzt (80, 81), sondern gegebenenfalls sogar herausgeschoben werden kann (86), deutet mit großer Wahrscheinlichkeit darauf hin, daß die Terramycin-Toxizität beim Meerschweinchen nicht eine dosisabhängige Nebenwirkung darstellt, zumal einerseits der Tod erst Tage nach Absetzen der Terramycin-Applikation eintreten kann, wenn keine antibiotisch-aktive Substanz im Körper mehr nachweisbar ist, andererseits Tiere höchste Dosen überleben können (80). Eine ähnliche Verlängerung der Überlebenszeiten um weitere 5—8 Tage läßt sich auch erreichen, wenn man während des Versuches die Terramycin-Dosis, beginnend mit 10 mg, täglich um weitere 10 mg steigert, wie wir es in hier nicht aufgeführten Versuchen feststellten. Eine Erklärung hierfür ist in der Tatsache zu finden, daß Terramycin trotz eines breiten Wirkungsspektrums (46) niemals sterile Darmverhältnisse auf Grund einer unterschiedlichen Antibiotika-Empfindlichkeit und einer verschiedenen schnellen Resistenzbildung der Darmkeimgruppen schafft, wie aus den eigenen Versuchen hervorgeht. Je nach ihrem Empfindlichkeitsgrad und der entsprechenden vorliegenden Terramycin-Konzentration werden alle Bakterien des Darmtraktes in ihrer Zahl zunächst reduziert. Übrig bleiben lediglich Terramycin-unempfindliche Keime und solche, die in der Lage sind, eine Resistenz schnell auszubilden. Eine derartige Resistenzbildung wird früher eintreten und ausgeprägter sein, wenn experimentell (wie in unseren Versuchen bei täglich einmaliger Antibiotika-Applikation) kein gleichmäßiger Terramycin-Spiegel aufrecht erhalten wird.

Auf Grund ihrer sehr hohen Antibiotika-Empfindlichkeit werden durch die Terramycin-Applikation die im Dünndarm des Meerschweinchens dominierenden Laktobakterien am stärksten betroffen. Das in diesem Darmabschnitt dadurch entstehende „mikrobielle Vakuum“ (nach GARROD) kann nun innerhalb kurzer Zeit von jedem beliebigen, resistenten bzw. gegen das verwendete Antibiotikum unempfindlichen Keim ausgefüllt werden, sofern die dort vorherrschenden Verhältnisse seinen Lebensbedingungen gerecht werden. In den Versuchen, in denen die Meerschweinchen täglich 10 mg Terramycin bis zum Todeseintritt erhielten, was übertragen auf den Menschen eine therapeutische Dosis darstellt, übernahmen in allen Fällen Colibakterien die Rolle des „ausfüllenden“ Keimes. Das Auftreten dieser Colibakterien im Dünndarm, die nach unseren Prüfungen im Agar-Diffusionstest gegen 200 γ Terramycin/ml resistent waren, fiel zeitlich mit den ersten objektivierbaren Toxizitätserscheinungen zusammen. Der Nachweis von einer Vermehrung der Colibakterien im Stuhl, wie er sich bereits am 2.—3. Tag nach Beginn der Terramycin-Applikation kulturell führen ließ, deren Resistenz, wie aus Tabelle V ersichtlich, noch nicht sehr hoch war, spiegelt nur die Verhältnisse des Dickdarmes wieder. Im Dünndarm sind zu diesem Zeitpunkt, wie wir in Vorversuchen festgestellt haben, Colibakterien nur vereinzelt zu finden. Erst ein Absetzen des Terramycin bewirkte jetzt ein

schlagartiges Aufwandern von Colibakterien in den Dünndarm, weil die 3tägige Terramycin-Applikation ausreichte, um dort die Kollektivflora zu zerstören. Vor dem Absetzen von Terramycin war das Aufwandern der Colibakterien des Dickdarmes in diesen Darmabschnitt sehr erschwert, da, wie erwähnt, die Resistenz nicht ausreichte. Die fortdauernde Verabreichung eines coliwirksamen Breitspektrum-Antibiotikum, wie Terramycin, verhindert aber nur solange den letalen Ausgang, der sich im Falle des Terramycin bei 10 mg 1 mal tgl. in der überwiegenden Zahl der Fälle am 6.—10. Tag einstellt, solange die Colibakterien nicht resistent sind.

Die Verwendung von Bacitracin, das in den angewendeten peroralen Dosierungen infolge seines hohen Molekulargewichtes nicht resorbiert wird (92) verdeutlicht die Ergebnisse der Terramycin-Fütterung. Das Wirkungsspektrum von Bacitracin erstreckt sich nur auf grampositive und gramnegative Kokken sowie grampositive Stäbchen, jedoch nicht auf gramnegative Stäbchen, so daß in den von uns durchgeführten Versuchen nach Eliminierung der empfindlichen Darmkeime der Ausbreitung der Colibakterien keine Resistenzbildung vorangehen mußte. Infolgedessen war hier die Überlebenszeit der Tiere gegenüber der Verwendung des Breitspektrum-Antibiotikum Terramycin merklich kürzer. Prinzipiell scheinen damit Terramycin und Bacitracin bei Meerschweinchen ihre letale Wirkung in gleicher Weise zu entfalten, wobei die Überlebenszeit von der Geschwindigkeit des Aufkommens von *E. coli* im Dünndarm abhängig ist. Diese ist kurz, wenn das Antibiotikum nicht coliwirksam ist oder bereits primär resistente Colibakterien vorhanden sind, und sie ist lang, wenn das Antibiotikum coliwirksam ist oder eine zu schnelle Resistenzbildung durch steigende Dosierung verhindert wird.

Von Seiten der Colibakterien allein läßt sich jedoch nicht erklären, weshalb manche Tiere 10fach letale Dosen überleben können (12, 80). Das eine überlebende Tier des Terramycin-Fütterungsversuches (s. Diagramm A), dem wir nach Abschluß der vergleichenden Untersuchungen und Absterben der übrigen Terramycin-behandelten Tiere einmalig 50 mg Terramycin peroral gaben, die es überlebte, zeigte nach seiner Tötung bei der Sektion kulturell im unteren Dünndarm vereinzelt Colibakterien und zahlreiche Laktobakterien, die sich im Agar-Diffusionstest gegenüber 200 γ Terramycin/ml unempfindlich erwiesen, während im Dickdarm gleichermaßen wie auch bei den vorher gestorbenen Tieren reichlich resistente Coli- und Laktobakterien vorhanden waren. Dies legt den Gedanken nahe, daß die Laktobakterien-Besiedlung des Dünndarmes einen Schutz gegen eine massive Aufwanderung von Colibakterien darstellt. Um diese Annahme zu erhärten, wurden 10 Meerschweinchen (250—280 g) beginnend mit 1 mg Terramycin täglich und einer Verdoppelung der täglichen Dosis im 4tägigen Rhythmus bis zu einer Maximal-Dosis von 32 mg gefüttert. Diese Tiere vertrugen danach ebenfalls eine einmalige Gabe von 50 mg Terramycin. 5 Tiere wurden daraufhin getötet und ihre Dünndarmflora kulturell untersucht. Es zeigte sich der gleiche Befund wie bei dem einen oben beschriebenen Tier. Diese Behandlungsart führt zu resistenten Laktobakterien, die ihren Lebensraum im Dünndarm gegenüber den resistenten Colibakterien des Dickdarmes wahrscheinlich auf Grund ihrer antagonistischen Fähigkeiten behaupten.

ten. Bei den 5 verbliebenen Tieren wurde die Laktobakterien-Flora durch eine tägliche Fütterung von 10 mg Bacitracin eliminiert. Hierdurch starben die 5 Meerschweinchen innerhalb 6 Tagen. Bakteriologisch war hier der Dünndarm mit den nachweislich Terramycin-resistenten, Bacitracin-unempfindlichen Colibakterien besiedelt.

WARBURG-VERSUCHE

Ausgehend von den Versuchen von BOHN und KOCH (8), die für Penicillin eine gesteigerte Toxizität für das Gehirn und beim Terramycin eine Lebertoxizität annehmen, wurde in einer Warburg-Apparatur untersucht, ob frisch entnommene Gewebestückchen durch Antibiotika in ihrem Atmungsmaß beeinträchtigt werden.

Mit der Warburg-Apparatur wurde mikromanometrisch bei einer Temperatur von 37° C und einer Schüttelfrequenz von 82 Ausschlägen in der Minute der Sauerstoffverbrauch von Hirn- und Leberschnitten unter Verwendung von Nährlösung nach HANKS (38) in der Zeiteinheit bestimmt. Zur Gewinnung der Hirnschnitte wurden ca. 300 g schwere Meerschweinchen dekapitiert, das Gehirn unverletzt entnommen und in einer vorgewärmten Petrischale weiterverarbeitet, die mit in HANKS'scher Nährlösung getränktem Filterpapier ausgelegt war. Nach schneller Herstellung möglichst dünner gleichförmiger Schnitte, welche nach gleichmäßiger Aufteilung in vorgewärmte Nährlösung kamen, wurden diese in Warburg-Gefäße mit je 4 ml Nährlösung, worin das Volumen der Schnitte selbst einbezogen war, überführt. In einen seitlichen Ansatzstutzen der Warburg-Gefäße kam 1 ml des zu prüfenden, in der gleichen Nährlösung gelösten Antibiotikum, das jeweils nach 30 Minuten durch Kippen in das Reaktionskölbchen gespült wurde. Untersucht wurde der Einfluß von Oxytetracyclin-Hydrochlorid (20 γ , 200 γ , 2000 γ pro ml) mit und ohne Ausgleich der Terramycin-bedingten sauren pH-Verschiebung. Die pH-Angleichung der Nährlösung an physiologische Verhältnisse erfolgte durch NaOH-Zugabe unter elektrometrischer pH-Kontrolle, nachdem festgestellt worden war, daß dadurch die antibiotische Aktivität innerhalb der Versuchszeitspanne nicht maßgeblich vermindert wurde. Der Einfluß von Penicillin-G-Natrium (1000 E, 10 000 E, 100 000 E pro ml) und Bacitracin (14,4 E, 72 E, 144 E pro ml) wurde ebenfalls untersucht, der in den angegebenen Einheiten jedoch keine pH-Verschiebung in der Nährlösung hervorrief, weshalb sich hier eine pH-Angleichung erübrigte. Da die Terramycin-Toxizität besonders die Leber betreffen soll, wurde bei gleicher Methodik der O₂-Verbrauch

- a) von frischem Lebergewebe nach Zugabe von 400 γ Oxytetracyclin-Hydrochlorid/ml mit und ohne pH-Angleichung (s. oben) und
- b) von Lebergewebe 4 Tage mit 80 mg tgl. p. o. behandelter Meerschweinchen im Vergleich zum Lebergewebe unbehandelter Kontrolltiere untersucht.

ERGEBNISSE

Nach Einbeziehung des unterschiedlichen K lbchenvolumens, des Manometer-
volumens, des atmosphärischen Druckes, des Bunsen'schen Absorptionskoeffi-
zienten der Nährlösung und der Manometerflüssigkeit für O₂ und Umrechnung
der gemessenen Sauerstoffwerte auf 1 g Trockengewicht des Gewebes ergaben
sich folgende Werte:

TABELLE VI

Öl O₂-Verbrauch von Hirnschnitten (1 g Trockengewicht) in 60 Minuten bei Ver-
wendung der Nährlösung nach HANKS mit unterschiedlichen Terramycin-Kon-
zentrationen ohne pH-Angleichung an die Kontrolle:

γ /ml	pH	Versuch 1 μ l O ₂ /60 Min.	Versuch 2 μ l O ₂ /60 Min.
2000	2,5	130	141
200	3,6	153	—
20	6,2	179	204
Kontrolle	7,3	248	254

TABELLE VII

Öl O₂-Verbrauch von Hirnschnitten (1 g Trockengewicht) in 60 Minuten bei Ver-
wendung der Nährlösung nach HANKS mit unterschiedlichen Terramycin-Kon-
zentrationen und pH-Angleichung an die Kontrolle:

γ /ml	pH	Versuch 3 μ l O ₂ /60 Min.	Versuch 4 μ l O ₂ /60 Min.	Versuch 5 μ l O ₂ /60 Min.
2000	7,3	—	247	237
200	7,3	243	249	242
20	7,3	228	215	249
Kontrolle	7,3	250	225	235

Wie in Tabelle VI aus den Sauerstoffwerten der Versuche 1 und 2 zu ersehen
ist, tritt bei Nichtangleichung der Terramycin-bedingten pH-Verschiebung an
physiologische Werte eine Abnahme des Atmungsma  es von Hirnschnitten
ein. Dies ist nicht der Fall in den in Tabelle VII angegebenen Versuchen 3, 4
und 5, bei denen eine pH-Angleichung vorausging.

Bacitracin sowie Penicillin zeigten in den angewendeten Konzentrationen kei-
nen Einfluß auf den Sauerstoffverbrauch, so daß sich die Wiedergabe der
Werte im einzelnen hier erübrigt.

In diesem Zusammenhange war besonders von Interesse, ob und inwieweit
die in der HANKS'schen Nährlösung der Warburg-Versuche beobachtete Ter-

ramycin-bedingte pH-Verschiebung auch im Liquor cerebrospinalis des Menschen auftritt oder ob sie dort durch die Pufferkapazität abgefangen wird. Hierzu wurde an 5 verschiedenen, normalen Liquorproben der pH-Wert bei steigender Oxytetracyclin-Hydrochlorid-Konzentration elektrometrisch gemessen. Die Werte der verschiedenen Proben zeigten untereinander kaum Abweichungen. Da bei allen Proben eine deutliche Konzentrations-abhängige Erniedrigung des pH's zu verzeichnen war, seien die Werte eines dieser Versuche in Tabelle VIII wiedergegeben.

TABELLE VIII

Liquor-pH bei steigender Oxytetracyclin-Hydrochlorid-Konzentration

γ Terramycin/ml Liquor	pH
50	7,25
100	6,9
150	6,7
200	6,5
250	6,4
300	6,3
350	6,2
400	6,1
450	6,2
500	6,1
550	6,0
600	5,8

Dieses Ergebnis kann bei intrathecaler Terramycin-Applikation Bedeutung erlangen.

Im Gegensatz zu den Befunden an Hirnschnitten konnten bei den O₂-Verbrauchs-Messungen an Lebergewebe weder bei nicht ausgeglichenem noch bei ausgeglichenem pH der HANKS'schen Lösung Unterschiede im O₂-Verbrauch nach Oxytetracyclin-Hydrochlorid festgestellt werden. Ebenfalls verhielten sich die Leberschnitte der Tiere, die mit Oxytetracyclin-Hydrochlorid 4 Tage vorbehandelt waren, gleich denen der unbehandelten Kontrolltiere.

Trotz der Feststellung, daß Bacitracin, Penicillin und abgepuffertes Terramycin in den angewendeten Konzentrationen den O₂-Verbrauch des Hirngewebes sowie der Leber nicht erniedrigt, kann eine zytotoxische Wirkung dieser Substanzen nicht ausgeschlossen werden, da diese ohne Beeinträchtigung des O₂-Verbrauches einhergehen kann (16). Erst das Auftreten einer pH-Verschiebung, wie sie im Liquor erreicht werden kann, setzt den O₂-Verbrauch von Hirngewebe herab. Rückschlüsse auf Verhältnisse in vivo läßt dieser Versuch nicht ohne weiteres zu, da das Ausmaß einer Blut-Liquor-Schranke für Terramycin und die Möglichkeit der Abpufferung im Blut dabei berücksichtigt werden muß, wenn Terramycin nicht intrathecal appliziert wird.

Untersuchungen des Einflusses eines Antibiotikum auf Einzelsysteme der Zelle *in vitro* stellen letztlich etwas Unbiologisches dar und können deshalb nur mit Vorbehalt in das biologische Gesamtgeschehen eingeordnet werden. Experimente mit Antibiotika *in vivo* werden aber stets dadurch kompliziert, daß man es dann nicht nur mit einem eventuellen Einfluß auf körpereigene Zellen, sondern auch gleichzeitig auf „Fremdzellen“ im Organismus, wie Bakterien, zu tun hat.

Unabhängig von der direkten Beeinflussung der Darmbakterien durch Antibiotika sehen PETUELY und LINDNER (73) einen zusätzlichen indirekten Einfluß der Antibiotika im Sinne einer Schädigung eines „körperbedingten Regulationsmechanismus“ der Darmflora bei Ratten, speziell beim Terramycin als primär an, wodurch infolge Einwirkung auf Ferment-Systeme dem Wirtsorganismus die Fähigkeit zur „Selektionierung der Darmbakterien“ verloren geht und es zu einer Reduzierung der Laktobakterien kommt. An Meerschweinchen konnten wir auf Grund unserer Befunde das Bestehen derartiger Mechanismen nicht feststellen, weil das Vorhandensein resistenter Laktobakterien im Dünndarm der Versuchstiere, die bei einer Schädigung des von PETUELY und LINDNER angenommenen Regulationsmechanismus durch Terramycin ebenfalls eliminiert werden müßten, die letale Wirkung des Terramycin verhinderte. Die zögernde Zunahme der auf Grund höherer Antibiotika-Empfindlichkeit vertriebenen Laktobakterien nach Absetzen von Terramycin beruht auf Inanspruchnahme ihres ursprünglichen Lebensraumes durch andere resistente Keime, der erst langsam von den Laktobakterien wieder zurückerobert werden kann.

Es sind also 2 Faktoren, deren Zusammentreffen für die Entfaltung der toxischen Wirkung eines Antibiotikum bei Meerschweinchen von Bedeutung ist:

1. Die Verminderung der Laktobakterien im Dünndarm.
2. Das Aufwandern unempfindlicher oder resistent gewordener Colibakterien in den Dünndarm.

In unseren Versuchen zeigte es sich, daß Laktose negative wie Laktose positive, also wahrscheinlich verschiedene serologische — wenn nicht sogar alle (83) — Coli-Typen eine derartige Darmtoxizität entfalten können.

Daß Colibakterien allein (ohne Antibiotika) für den Tod eines Meerschweinchens in Frage kommen können, wies schon GROSSMANN (30) nach, der durch Verfütterung von Coli-Suspensionen bei Meerschweinchen eine „Enteritis“ erzeugte, die durch Coli-Endotoxin-Wirkung tödlich verlaufen kann (83). Bei der Reproduktion dieser Versuche an 8 Tieren (Fütterung 3 mal tgl. 2 ml einer 8tägigen Coli-Bouillon-Kultur) kam es jedoch zu keinem Todesfall, trotz subjektiv intermittierenden Auftretens einer subakuten Enteritis, die sich in Meteorismus, Diurese-Steigerung und Flüssigkeitsansammlung im Darmlumen bemerkbar machte.

Zur Erklärung des Überlebens der Tiere stehen mehrere Möglichkeiten offen:

1. Infolge Dominierens der Laktobakterien trat keine Ansiedlung der Colibakterien ein.
2. Auftreten der enteritischen Symptome durch die in der Nährlösung enthaltenen Colitoxine, die vielleicht in größerer Menge letal wirken können.

Nach den Ergebnissen der vorangegangenen Experimente, sowie nach vorliegenden Literatur-Angaben scheint für den Tod der Meerschweinchen nach Antibiotika den Colibakterien eine kausale Bedeutung zuzukommen. Die sich hieran anknüpfende Fragestellung betraf, ob nach vorausgegangener Antibiotika-bedingter „Enteritis“ bei überlebenden Tieren sich Antikörper gegen Colibakterien in Form von Agglutininen nachweisen lassen.

An 5 Tieren, die eine 10tägige Terramycin-Applikation mit einer „Enteritis“ überlebt hatten, wurde nach 3 Wochen durch Herzpunktion Blut gewonnen und das Serum auf seine Agglutinationsfähigkeit in Verdünnungsstufen von 1 : 5/10/20/40/80/160/320/640/1280 gegen verschiedene aus dem Stuhl während des Bestehens der „Enteritis“ gezüchtete Colibakterien getestet. Als Kontrolle diente das in gleicher Weise gewonnene Serum unbehandelter Tiere. In keinem Fall konnte ein Agglunations-Titer nachgewiesen werden.

Anders verhielt sich das Serum überlebender Bacitracin-behandelter Meerschweinchen. Hier zeigte sich eine Agglutination gegenüber darneigenen Colibakterien bis zu einer Verdünnungsstufe von 1 : 40, was beim Menschen schon pathognomonische Bedeutung haben kann (85).

Aussagen über das Zustandekommen homologer Coli-Agglutinationen, nach Coliinfektionen lassen sich bis heute nur sehr unvollkommen erstatten (26). Voraussetzung hierzu ist, daß Colibakterien aus dem Darmtrakt vom Körper aufgenommen werden oder daß nach Zerstörung der Colibakterien im Darmtrakt O-Antigene und gleichzeitig sogenannte Kapselantigene (K : L, A, B) durch die Darmwand treten. In all den Fällen, in denen im Organismus nur ein O-Antikörper und kein Kapsel-Antikörper vorliegt, wird durch Zugabe von Colibakterien mit Kapselantigenen die Agglutination des O-Antikörpers in vitro maskiert (85).

Warum nun die Tiere, die eine Bacitracin-Fütterung überstanden hatten, eine Agglutination gegenüber Colibakterien zeigten, und nicht aber die Tiere, welche eine Terramycin-Fütterung überlebt hatten, läßt sich sehr schwer erklären. Für das Nichteintreten einer Agglutination im Serum von Tieren nach überstandener Terramycin-Applikation lassen sich folgende Gründe aufführen:

- a) Keine Antikörperbildung infolge zu kurzfristigen oder ausgebliebenen Übertrittes von genügend Colibakterien in den Organismus.
- b) Fehlende Kapselantikörperbildung als Folge eines mangelnden Kapselantigen-Übertrittes von Terramycin-abgetöteten Colibakterien in den Organismus, die in vitro zu einer Maskierung der O-Antikörper führt.
- c) Eventuelle Hemmung der Antikörperbildung durch Terramycin (28).
- d) Verwendung von Colibakterien als Antigene bei der Gruber-Widal'schen Reaktion, die nicht als Ursache der spezifischen Antikörperbildung in Betracht kamen, was im Falle des Terramycins gegenüber Bacitracin wahrscheinlich mehr zu beachten ist, weil Terramycin durch Coliwirksamkeit auf Grund unterschiedlicher Empfindlichkeit der Colibakterien eine selektivierende Wirkung auf diese ausübt.

Die Frage, welchem der aufgeführten Gründe eine ursächliche Bedeutung beizumessen ist, läßt sich zunächst nicht beantworten.

Inwieweit nun ein Coli-Antikörper die Tiere gegen die unter antibiotischer Therapie aufgewanderten Colibakterien schützen kann, soll im Folgenden experimentell untersucht werden.

IMMUNISIERUNG VON MEERSCHWEINCHEN

MIT COLIBAKTERIEN-FORMOL-IMPFSTOFF

Isolierte Colibakterien von 2 normalen und 2 unter Antibiotika-Gaben gestorbenen Meerschweinchen wurden auf Schrägagar überimpft. Am 2. Tag ihres Wachstums bei 37° C erfolgte ein vorsichtiges Abschwemmen mit physiologischer Kochsalzlösung dieser Schrägagarkulturen und 2 weiterer mit je einem serologisch gesicherten O₅₅B₅- und O₁₁₁B₄-Labor-Stamm. Nach Mischung dieser Abschwemmungen und Einstellung der Konzentration auf 10⁹ Keime/ml wurde die Suspension mit Formalin bis zum Erreichen einer Endkonzentration von 0,5 % Formalin versetzt. Diese Formalinkonzentration zerstört nicht die antigenen Eigenschaften der Bausteine von Colibakterien (85). Beginnend mit 0,1 ml erhielten 16 Meerschweinchen jeden 2. Tag das Doppelte der vorangegangenen Dosis dieser Mischvaccine s. c. Wenn Nebenerscheinungen auftraten, wurde die vorhergehende Dosis wiederholt. Am 11. Tag vertrugen die Tiere die End-Dosis von 3,2 ml symptomlos und am 14. Tag zeigte ihr durch Herzpunktion gewonnenes Serum bis zu einer Verdünnung von 1 : 320 eine H- und 1 : 640 eine O-Agglutination gegenüber den im Impfstoff verwendeten Colibakterien. Von den 16 Meerschweinchen (250—280 g) erhielten nach der Immunisierung mit dieser Mischvaccine die eine Hälfte 10 mg Terramycin, die andere Hälfte 10 mg Bacitracin pro Tier täglich peroral.

ERGEBNISSE

Es zeigte sich, daß ein auf die beschriebene Art erzeugter Antikörper die Meerschweinchen nicht gegen die toxische Einwirkung unter antibiotischer Therapie aufgewandelter Colibakterien schützen kann, obwohl das ante finem und post mortem gewonnene Serum dieser Tiere die im Dünndarm der toten Versuchstiere vorhandenen Colibakterien agglutinierte. Überlebenszeiten, Toxizitätsbild und bakteriologischer Befund entsprachen dem der nicht immunisierten Kontrolltiere (s. Diagramm U. V.).

DISKUSSION

Die gramnegativen Lipopolysaccharide, die als Endotoxine bezeichnet werden, üben einen Einfluß auf das Gefäßsystem aus, vermutlich über die glatte Muskulatur, da sie die Inaktivierung von Adrenalin und Noradrenalin bewirken (106). Am isolierten Mesoappendix der Ratte läßt sich zeigen, daß sie in

kleinen Dosen Hyper-, in großen Hypoaktivität im Arteriolen und Venengebiet hervorrufen (107). Am isolierten Herz-Lungen-Präparat erhöht E. coli-Endotoxin sowohl den arteriellen wie den venösen Druck (55) und mit dem Strömungskalorimeter läßt sich an den Hautgefäßen eine anfängliche Vasokonstriktion gefolgt von einer Vasodilatation aufzeigen (44). Auch ein permeabilitätssteigernder Effekt wird beobachtet, der aber nicht immer deutlich ist. Die Endotoxine der gramnegativen Bakterien sind in deren Polysaccharid-Komponente lokalisiert, der Lipoid-Anteil ist nicht antigen, verstärkt aber die antigenen Eigenschaften des Polysaccharids (51). Die Endotoxine binden in hoher Spezifität Antikörper gegen die somatischen Antigene derjenigen Bakterien, von denen sie gewonnen sind, regen aber selbst die Antikörperproduktion beim Menschen nur schwach und beim Tier gar nicht an (105).

Diese Eigenschaften der Endotoxine würden zweifelsohne das Bild der Antibiotika-Toxizität bei Meerschweinchen, wie es besonders von RUSCHMANN (83) angenommen wird, erklären. Nach den Ergebnissen unseres Immunisierungsversuches mit sämtlichen bisher bekannten vollwirksamen Coliantigenen (85) spricht jedoch einiges scheinbar gegen diese Annahme. Auch die Tatsache, daß reine Endotoxine nicht antikörperbildend sind (105), trifft in unseren Versuchen nicht zu, da sie nicht in isolierter Form appliziert wurden, sondern stets an den Gesamtbakterienkomplex gebunden waren. Antikörper gegen diese somatischen Antigene binden jedoch in hoher Spezifität Endotoxine (105).

Selbst wenn man in den eigenen Versuchen keinen ausreichten Immunisierungseffekt gegenüber den Endotoxinen arbeitshypothetisch annimmt, so kann man ihre alleinige auslösende Ursache auch deshalb anzweifeln, weil die Colibakterien im Falle der Bacitracin-Fütterung überhaupt nicht über ihre physiologische Absterbe-Rate hinaus beeinträchtigt werden. Letztere Feststellung trifft auch für Terramycin zu, wenn die Colibakterien resistent sind, wie es ja für ihre Aufwanderung in den Dünndarm Bedingung ist.

Aus diesen Überlegungen heraus wandten wir uns dem sog. Coli-Ektotoxin zu, über welches, im Gegensatz zum thermostabilen Endotoxin, dem Glucolipoid der Colibakterien, wenig bekannt ist. Es soll Eiweiß-Charakter besitzen, thermolabil sein, jedoch bezüglich seiner Typenspezifität kann nichts Sicheres ausgesagt werden, eventuell haben es alle Colibakterien gemeinsam, von denen einige es in besonders reichem Maße produzieren könnten (101). Ab 2. Tag sei es in Coli-Bouillon-Kulturen enthalten, zeige intravenös beim Kaninchen eine neurotoxische Wirkung, die durch ascendierende Paralyse, akute Amyotrophie mit Monoparesen und tonischen Kontrakturen als Folge degenerativer Prozesse im Rückenmark und Bulbus schnell zum Tode führe. Am isolierten Meerschweinchendarm wurden keine kontrahierenden Eigenschaften von Coli-Kulturfiltraten festgestellt, vielmehr konnten BEYERHAUS, LIENHOP und STÜTTGEN ein spasmolytisches Agens an Aluminiumhydroxyd absorbieren, welches aber keine Darmschädigungen verursacht (7). Das Endotoxin tritt erst mit zunehmenden Zerfall der Bakterien in Lösung, so daß man es in Filtraten 20tägiger Kulturen reichlich vorfindet (84). Welchen Einfluß diese Coli-stoffwechselprodukte auf das Meerschweinchen haben, soll im Folgenden untersucht werden.

COLIBAKTERIEN-KULTURFILTRATE

Verschiedene Coli-Stämme — vor normalen Meerschweinchen, von an Antibiotika-Enteritis erkrankten Tieren und serologisch gesicherten Labor-Stämmen von O₅₅B₅ und O₁₁₁B₄ — wurden getrennt in peptonfreier Fleischwasser-Bouillon 8 Tage bei 37° C bebrütet und durch SEITZ-Filter steril filtriert. Vor der Verwendung wurden die Kulturfiltrate in gleichen Anteilen gemischt. Hiervon erhielten 8 Meerschweinchen über 5 Tage 3 mal tgl. 1 ml p. o., 8 Tiere 1 mal 5 ml i. p. und 8 Tiere, welche nach der im vorangehenden Kapitel beschriebenen Methodik gegen Coli-Endotoxine immunisiert worden waren, ebenfalls 5 ml i. p.

ERGEBNISSE

Nach peroraler Applikation zeigten alle Tiere bereits am 2. Tag deutliche Symptome einer Enteritis (Meteorismus, Darmblähung, Flüssigkeitsansammlung im Darmlumen, erhöhte Diurese, Gewichtsverlust) gegenüber Kontrolltieren, die unbewachsene Bouillon per os erhielten. Diese Symptome führten allerdings bei keinem der Tiere zum Tode und ähnelten damit den beschriebenen Versuchen mit 8 Tage bewachsener, nicht filtrierter Coli-Bouillon. Die intraperitoneale Applikation führte kurze Zeit nach der Injektion zu Lethargie, Kollapsneigung, Herabsetzung des Muskeltonus und Störungen des Umdreh-Reflexes. Die Erscheinungen waren nach ca. 12 Stunden immer wieder abgeklungen, traten aber nicht bei Kontrolltieren auf, welche gleiche Mengen unbewachsener, peptonfreier Bouillon intraperitoneal erhielten. Bei immunisierten Tieren traten bei gleicher Dosierung ebenfalls dieselben Erscheinungen wie bei den nicht immunisierten Versuchstieren auf. Da uns nicht sinnvoll erschien, eine größere Menge als 5 ml i. p. zu injizieren, weil diese bereits einen nicht unerheblichen Schock bedeutet und durch weitere Steigerung der Menge die Fehlermöglichkeiten durch andere Faktoren stark ansteigen können, wurde im Folgenden versucht, das Colitoxin aus dem Kulturfiltrat auszufällen.

EXTRAKTION DES COLITOXINS AUS DEM KULTURFILTRAT

2 ml Filtrat 8—10tägiger Coli-Kulturen in peptonfreier Fleischwasser-Bouillon wurden tropfenweise in 20 ml eines Gemisches von Aceton und 96%igem Alkohol (1 : 1) unter Schütteln zugegeben und nach einigen Minuten der Niederschlag abzentrifugiert und in 0,4 ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst (84). Intraperitoneale Applikation von 5 ml dieser Extraktion (d. h. also ein Extrakt aus 25 ml Bouillon) verdeutlichte die Symptome gegenüber den Erscheinungen bei Anwendung des nicht ausgefällten Filtrates. Gegenüber Kontrolltieren, welche den Extrakt einer unbewachsenen, peptonfreien Bouillon erhielten, machten die Tiere kurze Zeit nach der Injektion einen schwerkranken Eindruck, wobei wiederum starker Tonusverlust, Lethargie, Kollaps und Störungen des Umdreh-Reflexes stark hervortraten. Unter diesen Erscheinungen verendete

innerhalb 24 Stunden ein Tier von 5 Versuchstieren, wohingegen bei 4 Tieren nach ca. 12—24 Stunden die Erscheinungen abgeklungen zu sein schienen. Als Gründe eines nicht letalen Ausgangs, mit Ausnahme des einen Tieres, können angeführt werden:

1. Ungeeignete bzw. unvollkommene oder schädigende Extraktion der Colistoffwechselprodukte.
 2. Ungeeignete Applikationsweise.
 3. Relativ schnelle Eliminierung aus dem Organismus.
 4. Keine permanente Einwirkung der applizierten Colistoffwechselprodukte.
- Es wurde zunächst offengelassen, welchem der aufgeführten Gründe maßgebliche Bedeutung beizumessen ist.

Ob diese Colistoffwechselprodukte antigene Eigenschaften besitzen und als solche im Tierversuch zu einer Antikörperbildung führen können, die dann gegen die Toxizität der unter Antibiotika-Einwirkung aufgewanderten Colibakterien einen ausreichenden Schutz bieten kann, war Gegenstand des nächsten Versuches.

BEHANDLUNG MIT COLIBAKTERIEN-KULTUR-FILTRAT

2 Gruppen von je 8 Meerschweinchen (250—280 g) erhielten 10 Tage lang täglich 3 ml steriles Filtrat 8—10tägiger Coli-Kulturen aus peptonfreier Fleischwasser-Bouillon i. p. und anschließend 5 Tage lang täglich 1 ml des Extraktes, dessen Herstellung im vorangehenden Kapitel beschrieben wurde, ebenfalls i. p. Nach dieser Vorbehandlung bekamen die Tiere der einen Gruppe 10 mg Terramycin/Tier tgl. p. o. und die der anderen Gruppe 10 mg Bacitracin/Tier tgl. p. o. Als Kontrollen dienten ebenfalls 2 Gruppen von je 8 Tieren, die nach gleicher Methodik, lediglich mit nicht beimpfter, filtrierter Nährlösung und deren Extrakt, vor der Antibiotika-Applikation behandelt wurden.

ERGEBNISSE

In den ersten Tagen der Coli-Filtrat-Verabreichung wiesen die Tiere zwar die typischen beschriebenen Symptome auf, die aber mit fortschreitender Behandlung deutlich abnahmen. Die Kontrolltiere zeigten derartige Erscheinungen nicht. Die danach einsetzende 12tägige perorale Antibiotika-Applikation in der oben angegebenen Dosierung, beginnend 4 Tage nach Beendigung der Vorbehandlung, überlebten die Tiere beider Gruppen. Auch nach Absetzen der Antibiotika traten keine Todesfälle auf (s. Diagramm W. X.). Im Stuhl waren stets Colibakterien nachweisbar. Sämtliche Kontrolltiere starben nach der für Terramycin bzw. Bacitracin üblichen Überlebenszeit.

Mit der Verhütung des letalen Ausgangs der Antibiotika-Toxizität bei Meerschweinchen durch Vorbehandlung mit Coli-Stoffwechselprodukten erhob sich

die Frage, ob sich dieses Ergebnis auch durch andere therapeutische Maßnahmen erreichen läßt. Von besonderem Interesse waren hierbei:

1. Versuche mit einer resistenten oder therapeutisch unterstützten Kollektivflora, die ein Aufwandern von Colibakterien in höhere Darmabschnitte antagonistisch verhindert.
2. Eine Eliminierung der Coli-Flora.
3. Verstärkung der Entgiftungsfunktionen des Organismus.
4. Passive Schutzimpfung mit vorgebildetem Coli-Antikörper.

B. VERSUCHE ZUR UNTERDRÜCKUNG DER ANTIBIOTIKA-TOXIZITÄT BEIM MEERSCHWEINCHEN MIT EINER RESISTENTEN ODER THERAPEUTISCH UNTERSTÜTZTEN KOLLEKTIV-FLORA

LAKTOBAKTERIEN-PRÄPARATE

Seit längerem bestehen Hinweise, daß die Antibiotika-Superinfektionen beim Menschen hauptsächlich durch die teilweise Zerstörung der natürlichen Darmflora entstehen (22). NIKOLOWSKI (63) forderte, bei Auftreten von Zwischenfällen mit Antibiotika als erstes die normale Darmflora wiederherzustellen. Im Zuge dieser Erkenntnisse empfahlen 1957 GORDON und Mitarbeiter (29) ein *Lactobacillus acidophilus*-Präparat der Firma APLIN & BARRETT, Yeovil, England: „ENPAC“, zur oralen Beimedikation bei innerer Anwendung von Antibiotika. Die darin enthaltenen lebenden, lyophilisierten Laktobakterien (10^7 /g) sind gegenüber Penicillin, Chloramphenicol, Neomycin, Tetracyclin, Oxytetracyclin, Chlortetracyclin und Erythromycin in einer Konzentration von jeweils 1 mg/ml — welche 30 % unter der höchst erreichbaren Antibiotika-Konzentration des Darmes liegen soll — resistent gemacht worden. Durch Anwendung dieses Präparates (3—6 g „ENPAC“ tgl.) soll eine bei Applikation von 10 mg/kg Terramycin tgl. erfolgende Staphylokokken-Vermehrung im Stuhl unterdrückt worden und eine Hefen-Vermehrung stets zurückgegangen sein. Enterokokken aber waren stets vermehrt vorhanden. Über Beziehungen zwischen der antibiotischen Einwirkung und dem Auftreten von Colibakterien im Stuhl konnte keine Regelmäßigkeit festgestellt werden. Nach einer anfänglichen Vermehrung der Laktobakterien in den ersten Tagen trat nach Vertreibung dieser sensiblen Stämme eine starke Zunahme resistenter Laktobakterien-Stämme ein.

EIGENE VERSUCHE

- a) Eine Gruppe von 7 Meerschweinchen erhielt pro Tier tgl. morgens 10 mg reines, kristallines Oxytetracyclin-Hydrochlorid in 1 ml Wasser gelöst per

os und 12 Stunden später 1—2 g „ENPAC“ p. o. in physiologischer Kochsalzlösung supendiert, gegenüber einer Kontrollgruppe von 7 Tieren, welche nur Terramycin (Dosierung wie oben) und Wasser appliziert bekam.

ERGEBNISSE

Es gelang nicht bei dieser Art der „ENPAC“-Fütterung resistente Laktobakterien anzusiedeln. Überlebenszeiten, Gewichtsverluste, Keimverschiebungen und Toxizitätsbild, sowie pathologisch-anatomischer Befund der Versuchstiere entsprachen denen der Tiere, welche nur Terramycin erhielten (s. Diagram C).

- b) Eine Gruppe von 7 Meerschweinchen erhielt pro Tier tgl. 10 mg Terramycin (wie oben) p. o. und eine andere Gruppe gleicher Tierzahl 10 mg Bacitracin (Reinsubstanz in 1 ml Wasser gelöst) /Tier 1 mal tgl. p. o. Vor Beginn der Antibiotika-Applikation erhielten die Tiere beider Gruppen 10 Tage lang 1—2 g „ENPAC“/Tier in 1 ml physiol. NaCl-Lsg. 1 mal tgl. p. o. und wurden auch während der Antibiotika-Applikation weiter mit „ENPAC“ gefüttert.

ERGEBNISSE

In der Terramycin-Gruppe überlebten 3 Tiere von 7, während 4 Tiere am 8. (2 Tiere), 10. (1 Tier) und 11. Tag (1 Tier) eingingen. Die überlebenden Tiere zeigten bereits am 2. Tag der Terramycin-Behandlung gegenüber 200 γ Terramycin/ml resistente Laktobakterien im Stuhl, wobei deren Gesamtzahl aber stark vermindert war und zunächst auch ein Gewichtsverlust eintrat. Alle mit Bacitracin und „ENPAC“ gefütterten Tiere gingen innerhalb der für Bacitracin üblichen kürzeren Überlebenszeit ein (s. Diagramm D. E.).

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die Substitution mit resistent gemachten, antagonistisch hochwertigen Laktobakterien ist aus verschiedenen Gründen schwierig. Voraussetzung ist, daß der anzusiedelnde Keim sich den Milieuverhältnissen bzw. der sehr variablen Stoffwechsellage des Körpers anpassen kann. Weiterhin muß ein entsprechender Lebensraum, der nicht von anderen, stark antagonistischen Keimen besiedelt ist, vorhanden sein. Ein solcher Lebensraum kann gegebenenfalls durch ein entsprechendes Antibiotikum geschaffen werden. Allerdings muß es dann sehr bald zu einer Ansiedlung der Laktobakterien kommen, da sonst die schneller wachsenden Colibakterien, welche demnach schneller resistent werden können, aus dem Dickdarm aufkommen und den freien Platz zunächst unwiederbringlich für sich in Anspruch nehmen. Berücksichtigt man ferner das

langsame Wachstum der angesiedelten resistenten Laktobakterien, so genügt nicht nur ihr vereinzelt Ansiedeln, sondern ihre Zahl muß mindestens so groß sein, daß ihre Stoffwechselprodukte im Dünndarm zum Zeitpunkt des Resistenzwerdens der Colibakterien ausreichen, um diese an ihrem Aufwandern zu verhindern. Eine derartige Ansiedelung trat nach einer Anfütterungsperiode nur bei 3 von 7 der mit Terramycin behandelten Tiere ein, eine Zahl, die großen Schwankungen unterliegen dürfte, da hierbei noch verschiedene andere Faktoren von Bedeutung sind, wie z. B. die Frage, ob zum Zeitpunkt der Verabreichung der ersten Antibiotika-Dosis bereits Colibakterien im Darm vorhanden waren und ob diese gegen die vorhandene Antibiotika-Konzentration schnell oder langsam resistent werden können. Bei coliumwirksamem Bacitracin waren letztlich keine verlängerten Überlebenszeiten zu erwarten, weil die „ENPAC“-Laktobakterien keine Resistenz gegenüber diesem Präparat besaßen.

Worauf der Antagonismus der Laktobakterien gegenüber anderen Darmbakterien im einzelnen beruht, ist noch nicht völlig erforscht. In Frage kommt:

1. Ein einfacher, nahrungsbedingter Antagonismus,
2. die Schaffung eines sauren Milieus, dem BAUMGÄRTEL die größte Bedeutung beimißt (6) und
3. die Produktion von antibiotischen Substanzen z. B. Lactocidin (102).

Interessant sind die Ergebnisse mit „ENPAC“ bei dystrophischen Kleinkindern, bei welchen keine Antibiotika appliziert wurden. Hier beobachtete MARGET (58) ein schlagartiges Ansteigen des Gewichtsverlaufes, welches ausblieb, wenn ein maximaler Laktobakterien-Gehalt im Darm der Kinder bereits vorhanden war. MARGET stellt als Grund für diese Beobachtungen

1. die Ausschaltung der Coli-Flora,
2. einen Wachstumsstoff der Laktobakterien und
3. den Milieuwechsel der Darmflora, der eine verbesserte Nahrungsausnutzung bedingen soll,

zur Diskussion.

Die Anwachsquote verschiedener Laktobakterien in vivo, besonders *Lact. bifidum* ist nach PETUELY (72) vor allem beim Brustkind neben einer Ernährung mit einem bestimmten Milchzucker/Eiweiß-Quotienten auch von sog. Bifidus-Faktoren, welche sich im Fett- und Eiweiß-freien Anteil der Frauenmilch, sowie im Collostrum befinden, stark abhängig. Wesen und Wirkungsweise derartiger Bifidus-Faktoren ist jedoch noch wenig bekannt, man nimmt aber an, daß es sich dabei um Aminozucker, stickstoffhaltige Oligosaccharide, handelt, deren Fehlen Säuglinge weniger gut gedeihen läßt und eventuell beim Brustkind Dyspepsie und Enteritis hervorrufen kann. Ähnliche Verhältnisse liegen bei der Kälberruhr (*calf scours*) vor, deren ruhrartige Symptome durch ein Kapillargift exotoxischer Natur von Colistämmen durch Verabreichung von Collostrum oder mütterlichem Serum unterdrückt werden können (84). Wahrscheinlich liefert also die Kälberruhr das Pendant zu unserer Antibiotika-Enteritis bei Meerschweinchen, welche ja auch durch Stärkung eine Kollektivflora günstig beeinflußt wird. Desgleichen ist bekannt, daß die Verabreichung sehr geringer Mengen Antibiotika (auch gekocht, also inaktiv) das Wachstum verschiedener Tierarten beschleunigen kann (33), was mit der Darmflora ursächlich zusammen-

hängen muß, da steril aufgezogene Hühner gegenüber konventionell aufgezogenen diesen Effekt nicht zeigten (79). Vielleicht ist dieser wachstumssteigernde Effekt der Antibiotika durch die Tatsache zu erklären, daß fast alle Antibiotika in ihrem Molekül einen Aminosucker-Anteil enthalten (54), der beim Abbau freiwerden und das Laktobakterien-Wachstum stimulieren könnte.

VITAMIN B-KOMPLEX-PRÄPARATE

Von verschiedenen Autoren werden die Nebenerscheinungen unter der Antibiotika-Behandlung auf einen Vitaminmangel vorwiegend des B-Komplexes zurückgeführt. Um der Bedeutung dieser Frage nachzugehen, erhielten 2 Gruppen von je 7 Meerschweinchen 5 Tage tgl. 10 mg Terramycin p. o. Die eine Gruppe erhielt ferner 0,3 ml Vitamin B-Komplex (BVK-ROCHE) pro Tier tgl. s. c., während die Kontrolltiere an Stelle des BVK die gleiche Menge physiologische NaCl-Lösung injiziert bekamen. Die Vitaminapplikation wurde bis zum Tage des Todeseintrittes fortgesetzt.

ERGEBNISSE

Die Tiere beider Gruppen starben unter gleichen äußeren Erscheinungen, Toxizitätsbild und Keimverschiebungen 1—5 Tage nach Absetzen des Terramycins (s. Diagramm F. G.).

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Das Auftreten eines Vitaminmangels unter antibiotischer Therapie wäre — wenn überhaupt — durch 4 verschiedene Möglichkeiten zu erklären:

1. Verlust der Vitaminbildner, in unserem Fall der grampositiven Laktobakterien,
2. werden durch Einwirkung anderer Bakterien die Resorptionsverhältnisse des Dünndarmes derart alteriert, daß eine verzögerte Vitaminresorption zu Vitaminmangel-Zuständen führen kann (21,42),
3. verbrauchen Colibakterien die mit der Nahrung aufgenommenen Vitamine und
4. kann eine echte Antivitaminwirkung der Antibiotika möglich sein (89).

Eine Vitaminmangeltheorie scheidet jedoch in unseren Versuchen aus, da sich nach FISCHER (20) infolge der kurzen Zeit kein Vitaminmangel ausgebildet haben kann.

MILCHSÄURE — AMMONIUMLAKTAT — AKTIV-KOHELE

Bekanntlich wird durch Milchsäure-Gaben im Organismus eine Alkalose und durch Ammoniumlaktat eine Acidose erzeugt, welche zu einer Änderung des Sekretionsmilieus und damit der Bakterienflora führen kann (56). Wir untersuchten, ob ein auf diese Weise experimentell verändertes Darm-Milieu einen

Einfluß auf die Überlebenszeit Terramycin-behandelter Meerschweinchen ausübt.

In einer gleichen Versuchsanordnung wie bei der Anwendung von Vitamin B-Komplex (5tägige Terramycin-Applikation) konnte die Beifütterung von Milchsäure (1 mal tgl. 2 ml 3%ige racemische Milchsäure p. o.) sowie Ammoniumlaktat (1 mal tgl. 2 ml 3%iges Ammoniumlaktat p. o.) das Aufwandern resistenter Coli-Stämme nicht verhindern oder erschweren und damit die Überlebenszeiten nicht verlängern (s. Diagramm H. I.), obwohl bei Kontrolltieren, welche nur Milchsäure und kein Terramycin erhielten, alsbald eine Vermehrung der Laktobakterien und Enterokokken im Stuhl festgestellt werden konnte. pH-Messungen des Stuhles waren nach Milchsäure-, wie nach Ammoniumlaktat-Fütterung nahezu identisch. Beifütterung von Aktiv-Kohle (ca. 0,5 g tgl. p. o.) zeigte ebenfalls keinen Effekt gegenüber den Kontrolltieren, welche nur Terramycin (5 Tage lang 10 mg tgl.) erhielten (s. Diagramm K.).

C. VERSUCHE ZUR UNTERDRÜCKUNG DER ANTIBIOTIKA-TOXIZITÄT BEIM MEERSCHWEINCHEN DURCH ELIMINIERUNG DER COLI-FLORA

NEOMYCIN

DEARING und Mitarbeiter (13) empfehlen beim Auftreten von postantibiotischer Enteritis beim Menschen zur Beseitigung der resistenten Darmstaphylokokken die Anwendung von Neomycin. In unseren Versuchen an Meerschweinchen verwendeten wir das Kombinationspräparat „NEBACETIN“ (BYK-GULDEN), welches durch coliumwirksames Bacitracin mit dem auch schwer resorbierbaren aber coliwirksamen Neomycin in gleichen Gewichtsanteilen vereinigt.

5 Meerschweinchen erhielten 1 mal tgl. 20 mg „NEBACETIN“ p. o., d. h. gleichzeitig 10 mg Bacitracin und 10 mg Neomycin in 1 ml Wasser gelöst.

ERGEBNISSE

Es erwies sich, daß Neomycin in dieser Dosierung das Aufwandern von E. coli-Stämmen bei 4 Tieren nicht zu verhindern vermochte. Die bei der Sektion im Dünndarm kulturell nachgewiesenen Colibakterien wiesen im Agar-Diffusionstest gegen 200 γ Neomycin/ml eine Hemmzone (vom Lochrand) von 8 mm auf. Überlebenszeit und Toxizitätsbild entsprachen denen bei Terramycin. Ein Tier, das überlebte, wies am 7. Tag im Stuhl Bacitracin- und Neomycin-resistente Laktobakterien auf (s. Diagramm L.).

INTESTIN-EUVERNIL

Bei der Testung von „INTESTIN-EUVERNIL“ (Chemische Fabrik VON HEYDEN), einem schwer resorbierbaren Sulfonamid, stellten GILLISSEN und HO (27) fest, daß dieses Präparat Terramycin-Toxizität bei Meerschweinchen zu ver-

hindern vermag und vermuteten, daß dieser Effekt nicht allein auf das antibakterielle Spektrum der beiden Wirkstoffe zurückzuführen ist, da Meerschweinchen bei Applikation von Terramycin zusammen mit Intestin-Euvernil trotz massiven Auftretens von Colibakterien im Stuhl überlebten.

EIGENE VERSUCHE

- a) 2 Gruppen von je 5 Meerschweinchen erhielten pro Tier 1 mal tgl. 0,4 g Intestin-Euvernil (Reinsubstanz in Wasser) per os. Dazu die eine Gruppe 1 mal tgl. 10 mg reines, kristallines Oxytetracyclin-Hydrochlorid in 1 ml Wasser pro Tier p. o. und die andere Gruppe 1 mal tgl. 10 mg Bacitracin (Reinsubstanz in 1 ml Wasser) pro Tier p. o.
- b) 2 Gruppen von je 8 Meerschweinchen erhielten pro Tier 4 mal tgl. 0,2 g Intestin-Euvernil (Reinsubstanz in je 1 ml Wasser) p. o. alle 6 Stunden und dazu Terramycin bzw. Bacitracin in der üblichen Dosierung (wie oben).

ERGEBNISSE

In der Versuchsanordnung a) erwies sich die einmalige Fütterung von 0,4 g Intestin-Euvernil tgl. als nicht geeignet, eine schnelle Resistenzbildung der Darmkeime gegen das Sulfonamid bzw. ein Aufkommen weniger resistenter Keime innerhalb 24 Stunden zu unterdrücken, obwohl in beiden Tiergruppen Tiere überlebten (2 Tiere bei Terramycin- und 1 Tier bei Bacitracin-Verabreichung).

Erst in der Versuchsanordnung b) (4 mal tgl. 0,2 g Intestin-Euvernil) überlebten 7 von 8 Tieren, welche Terramycin und 7 von 8 Tieren, welche Bacitracin erhielten.

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Intestin-Euvernil ist eine Weiterentwicklung des „Euvernils“, dessen Sulfonamid-Wirkung durch Einführung einer Methylol-Gruppe um eine Zehnerpotenz gesteigert wurde, welches aber durch Einfügen eine Phthal-Gruppe im sauren pH unlöslich ist (27). Obwohl also dadurch Voraussetzungen geschaffen sind, die im sauren Milieu des Dünndarmes lebenden Laktobakterien weniger zu schädigen, weil die Hauptwirkungsentfaltung im alkalischen Milieu des Dickdarmes liegt, läßt sich bei einmaliger Applikation das Aufkommen Intestin- und Terramycin-resistenter Coli-Stämme nicht verhindern. Stete Aufrechterhaltung einer genügend hohen Konzentration im Dickdarm kann jedoch die Antibiotika-Toxizität beim Meerschweinchen weitgehend herabsetzen. Das Auftreten von Colibakterien im Stuhl blieb bei 7 von 8 Tieren jeder Gruppe der Versuchsanordnung b) höchstwahrscheinlich auf den Dickdarm beschränkt, während sie bei den toten Tieren auch im Dünndarm zu finden waren.

D. VERSUCHE ZUR UNTERDRÜCKUNG DER ANTIBIOTIKA-TOXIZITÄT BEIM MEERSCHWEINCHEN DURCH UNTERSTÜTZUNG DER ENTGIFTUNGSFUNKTIONEN DES ORGANISMUS

REDUCDYN

„REDUCDYN“, ein Präparat der NORDMARK-Werke G.m.b.H., Hamburg bestehend aus

0,05 g dl Homocystein-thiolakton

0,15 g l Cystein

2,00 g Fructose zur intravenösen Leberschutztherapie

wurde je 2 Gruppen von 8 Meerschweinchen 3 Wochen lang intraperitoneal 3 mal tgl. 0,5 ml gespritzt, eine Dosis, die in Vorversuchen über die gleiche Zeit keine Nebenwirkungen zeigte. Eine Gruppe der Meerschweinchen erhielt wie bisher Terramycin und eine zweite Bacitracin in der bisher üblichen Dosierung und Applikationsweise.

ERGEBNISSE

Die Terramycin-Tiere starben in der für Terramycin-üblichen Überlebenszeit mit denselben toxischen Erscheinungen, Keimverschiebungen und mikroskopischen Befunden wie die Kontrolltiere, welche nur Terramycin und als intraperitoneales Äquivalent sterile physiologische NaCl-Lösung erhalten hatten. Bei den Bacitracin-Tieren dagegen starben nur 2 von 8, noch dazu nach einer für Bacitracin außergewöhnlichen Überlebenszeit (9. und 10. Tag). Hier fanden sich wiederum Colibakterien im Dünndarm.

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Bei der Suche nach einem Mittel, welches das Colitoxin in der Blutbahn angreifen könne, oder zumindest im Körper zur Entgiftung verwendet werden könne, stießen wir auf dieses interessante Präparat, dessen Anwendungsgebiet bis jetzt noch nicht völlig umrissen ist.

Es gilt allgemein, daß SH-Gruppen in menschlichen und tierischen Organismen eine wichtige Rolle spielen, existiert ja fast kaum ein Stoffwechselprozeß, an dem nicht mindestens ein SH-Enzym beteiligt ist, welches durch Mercaptidbildung gehemmt, durch einen Überschuß an löslichen Thiolen (Thiourazil, Thioglycolsäure, Gluthathion), die die inhibierende Substanz vom Protein verdrängen, wieder reaktiviert und vor weiterer Oxydation oder Hemmung geschützt werden kann (68).

Da der Leber zur Entgiftung körperschädlicher Substanzen, welches sie unter anderem durch Paarung mit Glucuronsäure, Paarung mit Schwefelsäure, Acetylierung, Methylierung aber auch durch Bildung von Mercaptursäuren und Mercaptiden (letzteres bei Schwermetallen) fertig bringt, nur eine begrenzte Menge freie Sulfhydryl-Gruppen zur Verfügung stehen, deren Verbrauch dann

zu Beeinträchtigung ihrer Entgiftungsfunktionen und ihrer SH-abhängigen Enzym-Systeme und damit zur Schädigung auch spezifischer Stoffwechselleistungen führen muß, lag der Gedanke nahe, aktive SH-Gruppen künstlich zuzuführen, welches bei geeigneter Auswahl, Präparierung und Dosierung durchaus im Bereich des Möglichen lag.

Da einerseits das Auftreten von Vergiftungserscheinungen mit Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Alloxan ursächlich mit dem Absinken des Sulfhydrylgruppen-Spiegels der Leber (evtl. bis auf 20 %) zusammenhängen soll, andererseits z. B. Kobra-Gift, Bienengift, Tetanus- und Diphtherie-Toxin in mehrfach tödlichen Dosen mit Cystin (bzw. SH-Körpern) zusammen vertragen würden, folgern NOLTMANN und BRUNS (68), daß es gleichgültig sei, durch welchen Stoff, — natürlich vorkommendes tierisches oder pflanzliches Gift, synthetisches Gift oder Schwermetall-Ionen, — die SH-Gruppen der Enzyme oxydiert würden, der Effekt sei in jedem Falle eine Inaktivierung. Ebenso würden SH-Verbindungen über verschiedene Mechanismen wirken, z. B. durch Reduktion der unwirksamen Disulfid-Systeme, direkte Reaktion mit dem Enzymgift (Reduktion, Bildung von Schwermetall-Komplexen) oder bloße Verschiebung des Redox-potentials. Ihr Eingreifen hätte jedoch den gleichen Erfolg: Schutz oder Reaktivierung der SH-Enzyme oder ihrer natürlichen Aktivatoren.

Das unterschiedliche Ergebnis mit Reducdyn in unserer Versuchsanordnung legt nun die Vermutung nahe, daß Terramycin die Entgiftungsfunktion der Leber gegenüber dem Coli-Toxin, welche bei Bacitracin-Applikation ja vorhanden zu sein schien, irgendwie beeinträchtigen könne. Vielleicht haben wir es hierbei mit der Zerstörung einer Art „Regulationsmechanismus der Darmflora“ zu tun, wie er von PETUELY und LINDNER (73) vermutet wird. Die Deutung dieses Resultates bedarf noch weiterer Untersuchung. In hier nicht erwähnten Versuchen mit einer einmaligen täglichen Reducdyn-Gabe konnte auch im Falle des Bacitracins, wie beim Terramycin, ein Effekt nicht erzielt werden.

E. PASSIVE SCHUTZIMPfung MIT VORGEBILDETEM COLI-ANTIKÖRPER

2 Gruppen von je 8 Meerschweinchen erhielten tgl. 1 ml antitoxisches Coli- und Gasödem-Serum von Pferd intraperitoneal (BEHRING-WERKE). Außerdem erhielt die eine Gruppe 1 mal tgl. 10 mg reines, kristallines Oxytetracyclin-Hydrochlorid in 1 ml Wasser gelöst pro Tier p. o., die andere Gruppe Bacitracin Reinsubstanz 1 mal 10 mg in 1 ml Wasser pro Tier tgl. peroral. Eine Kontrollgruppe von 8 Tieren erhielt neben den gleichen Antibiotika-Dosierungen BOVISERIN (Rinderblutserum der BEHRING-WERKE) intraperitoneal.

ERGEBNISSE

Es zeigten sich keine Unterschiede in den Überlebenszeiten, Gewichtsverläufen, Keimverschiebungen und Toxizitätsbildern der Versuchstiere gegenüber den Kontrolltieren. Alle Tiere starben innerhalb der für Terramycin bzw. Bacitracin üblichen Überlebenszeit (s. Diagramm S. T.).

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Obwohl bei der Herstellung des Serums sterile Kulturfiltrate besonders toxischer Coli-Stämme zur Verwendung kamen, schützte die intraperitoneale Anwendung des Serums nicht vor den Auswirkungen der Antibiotika-Toxizität. Als Gründe kommen eine zu geringe Polyvalenz des Serums, eine zu geringe Dosierung, bzw. ein Nichtzustandekommen der Toxin-Antitoxin-Bindung im Meerschweinchenserum in Frage, bevor das Toxin zur Wirkung gelangt.

DISKUSSION

Auf Grund unserer gesamten Versuche sehen wir die Ursache der toxischen Erscheinungen eines jeden Antibiotikum beim Meerschweinchen in toxischen Stoffwechselprodukten derjenigen Colibakterien, die nach Eliminierung der grampositiven Flora und besonders der Laktobakterien in obere Darmabschnitte aufgewandert sind, was beim Meerschweinchen sich fast immer letal auswirkt. Unabhängig von den Antibiotika lassen sich durch einmalige größere Gaben von Colistoffwechselprodukten die gleichen Symptome auslösen. Dies ist auch dann der Fall, wenn die Tiere gegenüber Colibakterien immunisiert sind. Diese Feststellung berechtigt zu der Annahme, daß die toxische Komponente weniger den Colibakterien selbst, sondern mehr ihren Stoffwechselprodukten anhaftet. Auch unter einer Behandlung mit Antibiotika ist den Stoffwechselprodukten die größere Bedeutung beizumessen, da eine Beeinflussung der in den Dünndarm aufgewanderten, resistenten Colibakterien durch das Antibiotikum, im Sinne einer Auflösung, nicht erwartet werden kann. Durch protrahierte Gaben von Colistoffwechselprodukten läßt sich ein Schutz gegen die unter antibiotischer Therapie aufgewanderten Colibakterien erreichen, der auf der Bildung von antitoxischen Stoffen, teilweise aber auch auf einer Gewöhnung im pharmakologischen Sinne beruhen kann. Die Symptome der bei unseren Tieren beobachteten Antibiotika-Toxizität und der nach Coli-Stoffwechselprodukten bzw. Ektotoxinen aufgetretenen, lassen eine cerebralt-toxische Wirkung wahrscheinlich werden. Hinzu kommt eine histologisch nachweisbare gefäßblähende Wirkung, deren Ursprung zentral oder auf einem direkten Angriff am Gefäßmuskel beruhen kann, was jedoch noch der endgültigen pharmakologischen Klärung bedarf.

Das von uns beobachtete histologische Toxizitätsbild entspricht den gleichen Veränderungen, wie sie auch bei der Verwendung von Endotoxin-freien, reinen Ektotoxinen von Shiga-Kruse-Ruhrbakterien beschrieben worden sind, die in einer Schädigung des Nerven- und Gefäßsystems und beim Kaninchen in charakteristischen Veränderungen des Caecums bestanden (74).

Eine derartige Kapillarlähmung erklärt die Blutungsneigung, die Diurese, den Gewichtsverlust (reiner Wasserverlust), den rapiden Rest-N-Anstieg (maximale Hämokonzentration), die Tachycardie und den trockenen Stuhl, da die Flüssigkeitsekretion des Dickdarmes unterbleibt, eventuell der Dickdarm sogar rückresorbiert, weil der Körper dringend Flüssigkeit benötigt, um einem paralyti-

schen Kollaps zu entgehen, unter dem die Tiere dann zugrunde gehen können (Gehirnentblutung).

Diese toxische Wirkung der Coli-Stoffwechselprodukte wurde durch eine Beifütterung von resistenten Laktobakterien während der Antibiotika-Therapie nicht verhindert, da eine Ansiedlung dieser Laktobakterien nicht eintrat. Auch im Falle der Verwendung von coliwirksamen Antibiotika-Präparaten (Terramycin, Neomycin) in üblicher Dosierung zeigte sich, daß Colibakterien wahrscheinlich infolge geringerer primärer Antibiotika-Empfindlichkeit sowie infolge ihres schnelleren Wachstums rasch eine genügende Resistenz gegen die vorhandene Antibiotika-Konzentration ausbilden können und dann die antagonistisch-wirksame, antibiotikageschädigte Laktobakterien-Barriere überwinden. So zeigte der Zeitpunkt des Auftretens der ersten toxischen Erscheinungen in unseren Versuchen mit den verschiedenen Antibiotika-Präparaten eine deutliche Abhängigkeit vom Zeitpunkt des Erlangens der Resistenz gegenüber dem verwendeten Antibiotikum, nachdem die Laktobakterien-Flora geschädigt worden war.

Auch eine einfache Verschiebung der Bakterienverhältnisse zugunsten der Laktobakterien, wie sie durch pH-mäßige Umstellung des Darmmilieus mit Milchsäure eintrat, bot keinen ausreichenden antagonistischen Schutz gegenüber den unter der Antibiotika-Therapie aufgewanderten Colibakterien. Gleichermaßen unwirksam waren Applikationen des zur Verhütung von Antibiotikaschäden therapeutisch verabreichten Vitamin B-Komplexes sowie Beifütterung von Aktivkohle zur ev. Absorption enteraler Giftstoffe.

Im Gegensatz dazu vermochte ein schwer resorbierbares Sulfonamid bei entsprechender Applikationsweise und Dosierung das Aufwandern der Colibakterien zu verhindern.

Eine intraperitoneale Behandlung mit vorgebildeten Coli-Antikörpern erwies sich als wirkungslos gegenüber den beschriebenen Auswirkungen der Antibiotika-Toxizität, wobei jedoch eine zu geringe Polyvalenz des Serums sowie ungeeignete Dosierung und Applikationsweise berücksichtigt werden müssen. Eine intraperitoneale Vorbehandlung mit Stoffwechselprodukten der Colibakterien konnte einen letalen Ausgang der Antibiotika-Behandlung bei Meeresschweinchen verhindern, wobei die Frage, ob der gewonnene Schutz im Sinne einer echten Immunisierung oder im Sinne einer pharmakologischen Gewöhnung zu deuten ist, offenbleiben mußte.

Züchtung einer resistenten grampositiven Darmflora durch unterschwellige, ansteigende Antibiotika-Applikation hatte in unseren Versuchen stets einen Schutz gegen die Auswirkungen der Toxizität des verwendeten Antibiotikums selbst in höchsten Dosen zur Folge.

Im Zusammenhange mit der Wirkung der Colistoffwechselprodukte sind die Feststellungen von KRAUSE und KOPPERMANN (50) interessant, welche beim Menschen nach Penicillin-Kuren durch Kreislauf-Analysen (nach WEZLER und BOGER) einen Anstieg des Minutenvolumens des Herzens und ein Absinken des absoluten peripheren Durchströmungswiderstandes feststellten, deren Ursache sie in einer direkten Penicillinwirkung vermuteten. Es ist jedoch möglich, daß Colistoffwechselprodukte auch beim Menschen ähnliche Wirkungen wie beim

Meerschweinchen ausüben und so diese Befunde im Sinne einer Kreislaufbeeinflussung durch Colitoxine gedeutet werden können; zumindest kann eine genaue Trennung der Antibiotika-Wirkung von der Toxin-Wirkung nicht ohne weiteres getroffen werden. Auch konnte ROOS (82) bereits im Jahre 1900 bei obstipierten Patienten durch Verfütterung von Colistoffwechselprodukten eine normale Darmentleerung herbeiführen, was aus dem oben Erwähnten durch eine vermehrte Flüssigkeitsabgabe in den Darm erklärbar ist.

Scheinbar können also die Colitoxine auch für den Menschen bezüglich Gefäßtonus, Kreislaufverhältnisse, Gewebeflüssigkeit und Gewichtsverlauf bedeutungsvoll sein. Welche Rolle den Colibakterien im Rahmen der Antibiotika-Nebenwirkungen beim Menschen zukommt, läßt sich nur sehr schwer beurteilen. Zahlreiche Nebenwirkungen lassen sich zwar in ihrem Sinne deuten, aber nicht experimentell belegen. In all den Fällen, in denen pathologisch-anatomisch eine pseudomembranöse Enterocolitis vorliegt, kommt vor allem wohl den Staphylokokken, im Sinne eines Hospitalismus, der maßgebende Anteil zu.

ZUSAMMENFASSUNG

Nach kritischer Besprechung des Problems der Darmflora an Hand von Literaturstudien, einem kurzen Überblick über die Vielzahl der möglichen Antibiotika-Nebenwirkungen, sowie Hinweisen auf Fehlerquellen und Schwankungsbreite von Ergebnissen in der Literatur und eigenen Versuchen, wurden Untersuchungen über Antibiotika-Nebenwirkungen und Darmflora-Zusammensetzungen bei Meerschweinchen angestellt.

Besonders Beobachtungen von Überlebenszeit, Gewichtsverlauf, Keimverschiebungen innerhalb der Darmflora, Toxizitätsbildern bei Meerschweinchen nach Anwendung verschiedener Antibiotika (Terramycin, Bacitracin, Neomycin), gestatteten eine Erklärung der letalen Wirkung der Antibiotika auf Meerschweinchen, die sich bei den angewendeten Antibiotika-Konzentrationen als abhängig erwies:

- a) Von der Vertreibung der grampositiven Symbionten (Laktobakterien, Enterokokken) aus dem Darmkanal,
- b) von dem Aufwandern von unempfindlichen oder resistent gewordenen Colibakterien und coliformen Keimen in den Dünndarm des Meerschweinchens,
- c) von dem Fehlen von Serum-Antikörpern gegen Stoffwechselprodukte der aufgewanderten Keime,
- d) von der Unzulänglichkeit einer Entgiftung der Colistoffwechselprodukte durch den Organismus.

Durch Beifütterung von Präparaten lebender, resistenter Laktobakterien, Vitamin B-Komplex-Präparaten, Milchsäure-, Ammoniumlaktat-, Aktiv-Kohle-Beifütterung, sowie durch Anwendung von Neomycin und einem Peritonitis-Serum der Behringwerke konnte diese Antibiotika-Toxizität nicht unterdrückt werden. Erst Züchtung einer resistenten, grampositiven Darmflora, Eliminierung der Colibakterien durch schwer resorbierbare Sulfonamide, z. T. Unterstützung

der Entgiftungsfunktion der Leber durch SH-Gruppen-Donatoren, drückten die Antibiotika-Toxizität auf ein geringeres Maß herab.

Eine Vorbehandlung mit Stoffwechselprodukten der Colibakterien (im Sinne einer Immunisierung oder pharmakologischen Gewöhnung) konnte einen letalen Ausgang der Antibiotika-Behandlung bei Meerschweinchen verhindern. Angriffspunkte und Wirkungsweise der für die Antibiotika-Toxizität bei Meerschweinchen verantwortlichen Colistoffwechselprodukte werden im Kapillargefäßsystemen des Organismus vermutet, wobei eine periphere, wie auch zentrale Auslösung als Ursache in Frage kommen kann.

Parallelen zu den Verhältnissen beim Menschen lassen sich aus diesen tierexperimentellen Untersuchungen nur bedingt ziehen.

DIAGRAMME

Erläuterungen

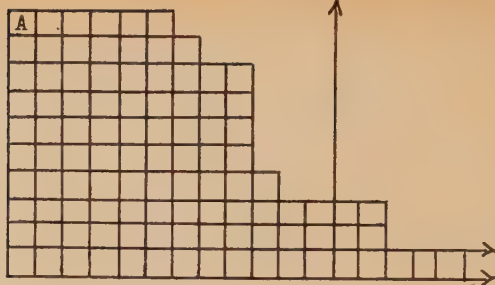
Abszisse: Versuchstage

Ordinate: Versuchstiere

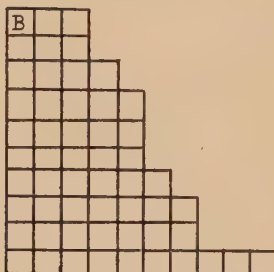
→ : überlebende Tiere

Terramycin abgesetzt

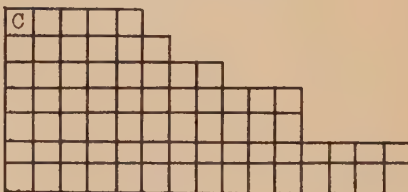
Terramycin:
1 × tgl. 10 mg p. o.
pro Tier



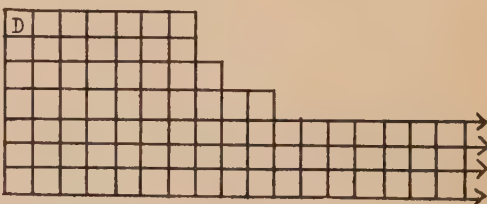
Bacitracin:
1 × tgl. 10 mg p. o.
pro Tier



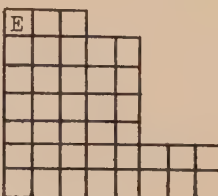
Terramycin: wie oben
„ENPAC“:
1 × tgl. 1—2 g p. o.
pro Tier



Terramycin: wie oben
„ENPAC“:
1 × tgl. 1—2 g p. o.
pro Tier
(nach Anfütterungs-
periode)



Bacitracin: wie oben
„ENPAC“:
1 × tgl. 1—2 g p. o.
pro Tier
(nach Anfütterungs-
periode)

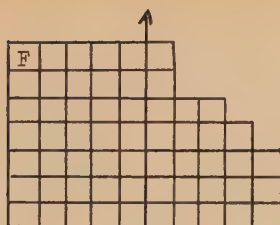


Terramycin: wie oben

Wasser:

1 × tgl. 1 ml p. o.

pro Tier

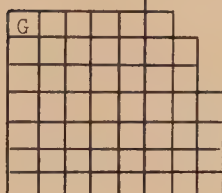


Terramycin: wie oben

Vit.-B-Komplex:

1 × tgl. 0,3 ml s. c.

pro Tier

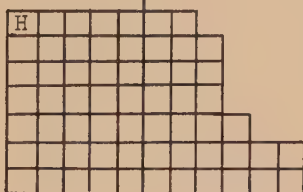


Terramycin: wie oben

Milchsäure (3%ig):

1 × tgl. 2 ml p. o.

pro Tier

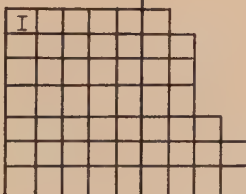


Terramycin: wie oben

Ammoniumlaktat (3%ig):

1 × tgl. 2 ml p. o.

pro Tier

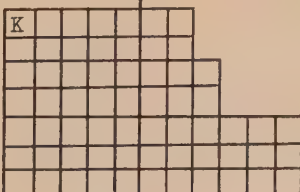


Terramycin: wie oben

Aktiv-Kohle:

1 × tgl. 0,3 g p. o.

pro Tier



Terramycin

(jeweils am 5. Tag abgesetzt)

Bacitracin: wie oben
 Neomycin:
 1 × tgl. 10 mg p. o.
 pro Tier



Terramycin: wie oben
 „Intestin-Euvernil“:
 1 × tgl. 0,4 g p. o.
 pro Tier

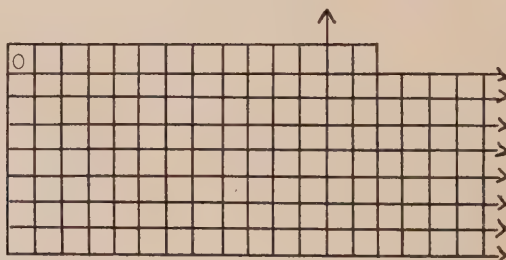


Bacitracin: wie oben
 „Intestin-Euvernil“:
 1 × tgl. 0,4 g p. o.
 pro Tier



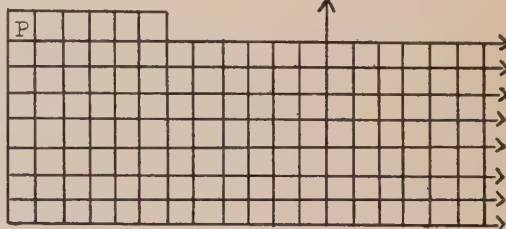
Terramycin abgesetzt

Terramycin: wie oben
 „Intestin-Euvernil“:
 4 × tgl. 0,2 g p. o.
 pro Tier

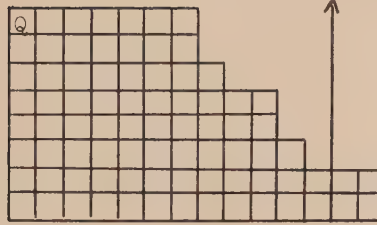


Bacitracin abgesetzt

Bacitracin: wie oben
 „Intestin-Euvernil“:
 4 × tgl. 0,2 g p. o.
 pro Tier



Terramycin abgesetzt

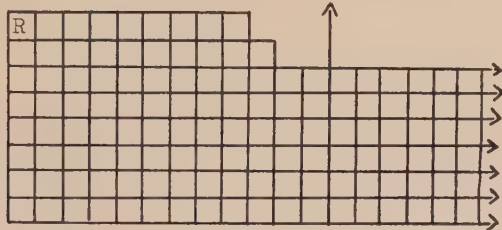


Terramycin: wie oben

„Reducdyn:

3 × tgl. 0,5 ml/Tier i. p.

Bacitracin abgesetzt

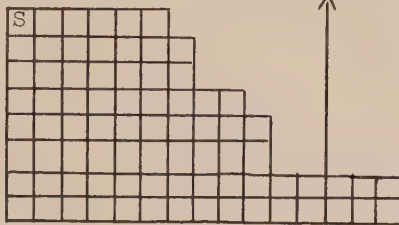


Bacitracin: wie oben

„Reducdyn:

3 × tgl. 0,5 ml/Tier i. p.

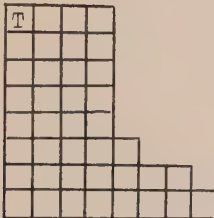
Terramycin abgesetzt



Terramycin: wie oben

Peritonitis-Serum:

1 × tgl. 1 ml/Tier i. p.

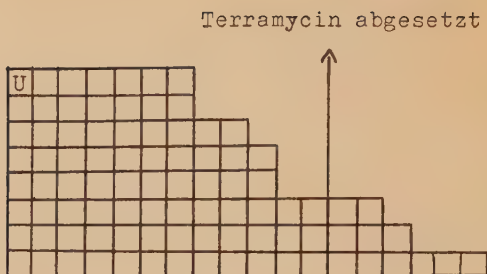


Bacitracin: wie oben

Peritonitis-Serum:

1 × tgl. 1 ml/Tier i. p.

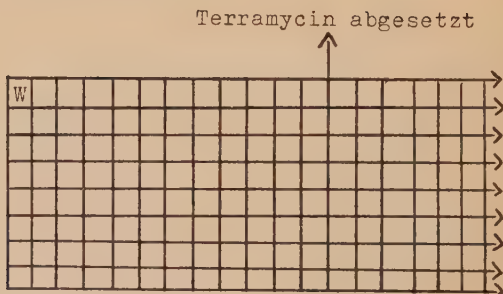
Terramycin: wie oben
Coli-Formol-
Immunisierung



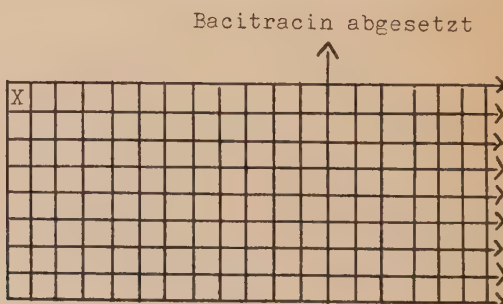
Bacitracin: wie oben
Coli-Formol-
Immunisierung



Terramycin: wie oben
Coli-Formol-
Immunisierung



Bacitracin: wie oben
Coli-Formol-
Immunisierung



LITERATUR-VERZEICHNIS

- 1 Ambrus, C. M.; Sigeri, C. N.; Johnson, G. C. and Harrison, J. W. E.: Antibiotics and Chemotherapy **2**:521 (1952) Zit. Fischer, G. W. (20)
- 2 Baumgärtel, Tr.: Physiologie und Pathologie der Darmflora. Berlin. Med. Ges. 1952 Dtsch. med. Wschr. **77**:757 (1952)
- 3 Baumgärtel, Tr.: Fragekasten, Münch. med. Wschr. **95**:857 (1953)
- 4 Baumgärtel, Tr.: Was ist Dysbakterie? Med. Klin. **50**:1713 (1955)
- 5 Baumgärtel, Tr.: Klinische Darmbakteriologie. Stuttgart 1957
- 6 Baumgärtel, Tr., und Zahn, D.: Neue Forschungsergebnisse über die Bedeutung der intestinalen pH-Reaktionslagen für die Darmflora. Ther. Gegenw. **4**:132 (1957)
- 7 Beyerhaus, G.; Lienhop, E., und Stüttgen, G.: Experimentelle Untersuchungen zur biologischen Wirkung von Coli-Stoffwechselprodukten. Ärztl. Forschg. **8**:226 (1954)
- 8 Bohn, H., und Koch, E.: Klinisches Bild und Pathogenese der Vergiftungserscheinungen mit Penicillin, Penicillin-Ester und Tetracyclinen. Münch. med. Wschr. **47**:1589 (1956)
- 9 Böhme, B.: Mechanismen der unspezifischen Infekteresistenz. Klin. Wschr. **36**:837 (1958)
- 10 Brazil, O. V., and Corrado, A. P.: The Curariform Action of Streptomycin. J. Pharmacol. exp. Ther. **120**:452 (1957)
- 11 Corrado, A. P.; Ramos, A. O., and de Escobar, C. T.: Neuromuscular Blockade by Neomycin Potentiation by Ethar-Anaesthesia and d-Tubocurarine and Antagonism Calcium and Prostigmin. Arch. intern. Pharmacodyn. **121**:380 (1959)
- 12 De Somer, P.: Die Bedeutung der Darmflora für die Toxizität beim Meerschweinchen. Zbl. Bakt. Abt. I, Orig. **170**:338 (1957)
- 13 Dearing, W. H., and Needham, G. M.: Proc. Staff. Med. Mayo Clin. **28**:507 (1953) Zit. Hackl, H. (32)
- 14 Difco-Manual: 9. Edit. 1953
- 15 Dolega, K.: ZYMA-BLAES A. G. München. Persönliche Mitteilung
- 16 Ettlinger, L.: Wirkungsmechanismus der Antibiotika. Antibiotika et Chemotherapia, Fortschr. **4**:46 S. Karger, Basel/New York (1957)
- 17 Eyssen, H. J. M.: Een proefondervindelijke Studie over de Toxiciteit der Antibiotika voor de Cavia. Verhandeling voorgetragen in de wedstrijd voor de reisbeursen van de Staat, geopend op 1 Mei 1956 voor de houders van een wettelijk universitair diploma. Universitätskliniken St. Rafaël, te Leuven; Laboratorium voor Bakteriologie (Bestuurder: Prof P. De Somer)

- 18 Ferguson, W. W.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **66**:71 (1956) Zit. Seeliger (95)
- 19 Finland, M., and Weinstein, L.: Complications induced by antimicrobial agents. New Engl. J. Med. **248**:220 (1953)
- 20 Fischer, G. W.: Die Soorkomplikationen der Aureomycintherapie im Lichte tierexperimenteller Untersuchungen. Annales Universitatis Saraviensis 2/3 III:111 (1955)
- 21 Freerksen, E.: Die praktische Bedeutung der Darmflora für den Menschen. Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 108 (1957)
- 22 Garrod, L. P.: Present position of the chemotherapy of bacterial infections. Brit. med. J. 756 (1955)
- 23 Gernez-Rieux, Buttiaux et Brogniart: Presse méd. 565 (1947) Zit. Orzechowski (69)
- 24 Gernez-Rieux, Sevin et Beerens: Toxicité de la pénicilline pour le cobaye. Presse méd. 577 (1948)
- 25 Gillissen, G.: Der Agardiffusionstest (Lochtest) als Routineverfahren. Zbl. Bakt. Abt. I, Orig. **161**:482 (1954)
- 26 Gillissen, G.: Zur Pathogenität von Colibakterien. Medizinische **22**:778 (1954)
- 27 Gillissen, G., und Ho, S.: Bakteriologische Untersuchungen über N-Methylol-4-phthalylaminobenzol-1-sulfonylharnstoff. Arzneimittelforsch. **6**:432 (1956)
- 28 Giusti: Zit. Carlson, S., und Husmann, K. H.: Über die pathogenetische Bedeutung und Ausbreitung der Hefen unter der Antibiotika-Therapie. Zbl. Bakt. Abt. I, Ref. **160**:173 (1956)
- 29 Gordon, D.; Macrae, J., and Wheeler, D. M.: A Lactobacillus Preparation for use with Antibiotics. Lancet, **4**:899 (1957)
- 30 Großmann, W.: Das Verhalten des B. coli im Darm des Meerschweinchens. Med. Diss. (München 1952)
- 31 Haggemüller, F.: Zur Therapie mit Erycin. Medizinische 1445 (1955)
- 32 Hackl, H.: Untersuchungen über die Darmtoxizität moderner Breitband-Antibiotika. Medizinische, 392 (1958)
- 33 Haenel, H.: Zur Problematik der Darmflora. Pharmazie **11**:781 (1956)
- 34 Haenel, H., und Kunde, Ch.: Vergleichende quantitative Untersuchungen über Caecalflora und Kotflora von Ratten. Zbl. Bakt. Abt. I, Orig. **165**:107 (1956)
- 35 Haenel, H., und Müller-Beuthow, W.: Vergleichende quantitative Untersuchungen über Keimzahlen in den Faeces des Menschen und einiger Wirbeltiere. Zbl. Bakt. Abt. I, Orig. **167**:123 (1956)
- 36 Haenel, H.; Müller-Beuthow, W., und Scheunert, A.: Einfluß extremer Kostformen auf die faecale Flora des Menschen. Zbl. Bact. Abt. I, Orig. **168**:37 (1957)
- 37 Hallmann, L.: Bakteriologische Nährböden. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1953
- 38 Hanks, J. H., and Wallace, R. E.: Relation of Oxygen and Temperature in the Preservation of tissues by refrigeration. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **71**:196 (1949)

- 39 Heinemann, G., und Carlson, S.: Untersuchungen über die Antibiotika-Wirksamkeit bei der Begleitcholangitis chirurgischer Erkrankungen der Gallenwege. *Med. Klin.* **53**:464 (1958)
- 40 Hegemann, F.; Gleitz, K., und Wachtelborn, G.: Über die Ausscheidung von Sulfonamiden und antibiotischen Mitteln in der menschlichen Galle. II. Mitteilung. Die Ausscheidung von Terramycin. *Z. klin. Med.* **153**:175 (1955)
- 41 Henning, H.; Legler, F.; Zeitler, G., und Neugebauer, J.: Untersuchungen zur Bakterienbesiedlung des unteren Dünndarmes. *Münch. med. Wschr.* **101**:673 (1959)
- 42 Herrmann, W., und Hofmann, K.: Die Bedeutung der heutigen „Dysbakterie“-Forschung für die Diagnose von Erkrankungen des Verdauungsapparates. *Med. Mschr.* **13**:203 (1959)
- 43 Herrell, W. E., und Schulze, E.: Penicillin und andere Antibiotika. Stuttgart 1949
- 44 Jaeger W., und Seraphim: Graefes Arch. Ophtal. **158**:449 (1957) Zit. Böhme, B. (9)
- 45 Jensen, H. B.: A fatal case of staphylococcal colitis which developed in a connection with chemotherapy. *Ugeskr. Laeg.* 1320 (1954)
- 46 Hobby, G. L.; Dougherty, N.; Lenert, T. F.; Hudders, E., and Kiseluk, M.: The antimicrobial action of terramycin in vitro and in vivo. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **73**:503 (1950)
- 47 Kauffmann, F.: Über die Bedeutung der E. coli-typen für die Beurteilung der Darmflora. *Dtsch. med. Wschr.* **79**:1033 (1954)
- 48 Kauffmann, F.: Enterobacteriaceae. 2. Aufl. Kopenhagen 1954
- 49 Kauffmann, F.: Zur biochemischen und serologischen Gruppen- und Typeneinteilung der Enterobacteriaceae. *Zbl. Bakt. Abt. I, Orig.* **165**:344 (1956)
- 50 Krause, P., und Koppermann, E.: Die Wirkung des Penicillins auf den Kreislauf. *Hautarzt* 168 (1952)
- 51 Kröger, E.: *Klin. Wschr.* 406 (1957) Zit. Böhme, B. (9)
- 52 Kuemmerle, H. P.: Entero-Colitis und Antibiotika. *Antibiotika et Chemotherapie* **6**:78 (1959)
- 53 Kuhlmann, F., und Herrmann, W.: Krebsforschung und Krebsbekämpfung **2**:267 (1957) Zit. Herrmann, W., und Hofmann, K. (42)
- 54 Kuhn, R.; Baer, H. H.; Bister, W.; Brossmer, R.; Gauhe, A.; Haas, H. J.; Haber, F.; Krüger, G.; Tiedemann, H., und Weiser, D.: Aminozucker. *Angewandte Chemie* **69**:23 (1957)
- 55 Kuida, H., and Hinshaw: *Fed. Proc.* **16**:75 (1957) Zit. Böhme, B. (9)
- 56 Lammers, Th.: Biologie der Zahnkaries. Dr. Alfred Hüthig-Verlag, 1956
- 57 Loder, R. E., and Walker, R. F.: Neuromuscular Blocking Action of Streptomycin. *Lancet* **1**:812 (1959)
- 58 Marget, W.: Ein biologischer Schutz gegen Schädigungen durch orale antibiotische Therapie. Vortrag in der Med. Ges. Freiburg 27. 11. 1956
- 59 Meyer-Rohn, J.: Veränderungen der normalen Darmflora unter Tetracyclin-Gaben. *Ärztl. Forsch.* **10**:230 (1957)

- 60 Miescher, G., und Böhm, C.: Schweizer med. Wschr. 821 (1947) Zit. Fischer, G. W. (20)
- 61 Mosonyi, L.: Die Wirkung der Antibiotika auf die Zellen. *Antibiotica et Chemotherapia* 5:230 (1957)
- 62 Mühlmann, K.: Zucht und Haltung des Meerschweinchens als wissenschaftliches Versuchstier. Hannover 1944
- 63 Nikolowski: Dtsch. med. Wschr. 553 (1953) Zit. Orzechowski (69)
- 64 Nissle, A.: Die normalen Darmbakterien und ihre Bedeutung für den Organismus. Handbuch pathogener Mikroorganismen. Kolle, Kraus und Uhlenhuth. Berlin und München 1929
- 65 Nissle, A.: Über die Bedeutung der Dysbakterie des Kolons für die Pathogenese des Krebses. Münch. med. Wschr. 95:317 (1953)
- 66 Nissle, A.: Über die pathogenetische Bedeutung der Colondysbakterie. *Med. Klin.* 51:635 (1956)
- 67 Nissle, A.: Die Dysbakterie als Grundlage eines natürlichen Heilprinzips. *Zbl. Bakt. Abt. I, Orig.* 170:286 (1957)
- 68 Noltmann, E., und Bruns, F. H.: Über Sulfhydrylgruppen als Wirkungszentren von Enzymen, ihre physiologische, pathologische und therapeutische Bedeutung. *Materia Medica Nordmark* XI. 37, 78, 109 (1959)
- 69 Orzechowski: Nebenwirkungen der Antibiotika. Schleswig-Holsteinisches Ärzteblatt 4: (1955)
- 70 P'an, S. Y.; Reilly, J. C.; Halley, T. V.; Richard, G. H.; Pekich, A. M., and Pollets, H. A.: The Pharmacology of Terramycin. *J. Pharmacol. & exp. Ther.* 99:234 (1950)
- 71 Payne, H. G.; Spencer, J. N., and Schultz, F. H. jr.: The oral Toxicity of Bacitracin. *Antibiotics and Chemotherapy* 1:387 (1951)
- 72 Petuely, F.: Der Bifidusfaktor. *Dtsch. med. Wschr.* 82:1957 (1957)
- 73 Petuely, F., und Lindner, G.: Untersuchungen über die Regulationsmechanismen für die Darmflora und ihre Beeinflussung durch Terramycin. Bedeutung des bakteriellen Umgebungsmilieus für die Darmflora. *Zbl. Bakt. Abt. I, Orig.* 169:178 (1957)
- 74 Prigge, R., und Kicksch, L.: Experimentelle Untersuchungen über die giftigen Antigene des Ruhrbacillus Shiga-Kruse. *Z. Immun.-Forsch.* 101:367 (1942)
- 75 Rübiger, H.: Das Meerschweinchen, seine Zucht, Haltung und Krankheiten. Hannover 1923
- 76 Rauch, G.: Beitrag zum Dysbakterieproblem und zur Bedeutung der Stoffwechselprodukte obligater Darmbakterien für Therapie und Prophylaxe. *Medizinische* 1139 (1955)
- 77 Rentchnik, P.: Die akute Staphylokokken-Enterocolitis, eine ernste Komplikation der Antibiotika-Therapie. *Dtsch. med. Wschr.* 80:892 (1955)
- 78 Reuter, H.: Über die curareartige, neuromuskuläre Wirkung verschiedener Antibiotika. Inaug. Diss. Mainz 1960
- 79 Reyniers, J. A.; Luckey, T. D., and Gordon, H. A.: Studies of the growth-effect of antibiotics in germfree animals. *Colloqu. Lobund. Institute, Univ. of Notre Dame, Indiana USA.*

- 80 Rolle, M., und Mayer, H.: Untersuchungen über die erworbene Resistenz der Meerschweinchen gegen Penicillin. Zbl. Vet. med. II, 383 (1955)
- 81 Rolle, M., und Mayer, H.: Experimentelle Studien über die Entwicklung von Meerschweinchen und die Änderung ihrer Darmflora nach Verabreichung von Aureomycin. Zbl. Vet. med. II, 693 (1955)
- 82 Roos: Münch. med. Wschr. **47**:1481 (1900) Zit. Rauch, G. (76)
- 83 Ruschmann, E.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der Penicillintoxizität. Z. Hyg. **140**:248, 264, 333 (1954)
- 84 Schmidt, H.: Grundlagen der spezifischen Therapie und Prophylaxe bakterieller Infektionskrankheiten. Bruno Schultz-Verlag, Berlin-Grünwald 1940
- 85 Schmidt, H.: Fortschritte der Serologie. Verlag v. Dr. Dietrich Steinkopff, Darmstadt 1955
- 86 Schneiersen, S. S., and Perlmann, E.: Toxicity of penicillin for the syrian hamster. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **91**:229 (1956)
- 87 Schoenbach, E. B.; Bryer, M. S., and Long, P. H.: The Pharmacology of Terramycin in Animals and Man with Reference to Its clinical Trial. Ann. N. Y. Acad. Sci. **53**:245 (1950)
- 88 Scholz, O.: Enterocolitis acuta als postoperatives Syndrom. Bruns Beitr. klin. Chir. **191**:418 (1955)
- 89 Schroeder, H., und Fuchs, M.: Antibiotika und Vitaminstoffwechsel. Klin. Wschr. **33**:278 (1955)
- 90 Scudi, J. V., and Antopol, W.: Some Pharmacological Characteristics of Bacitracin. Proc. Soc. Exp. Biol. **64**:503 (1947)
- 91 Scudi, J. V.; Coret, J. A., and Antopol, W.: Some Pharmacological Characteristics of Bacitracin. III. Chronic Toxicity Studies of Commercial Bacitracin in the Dog and Monkey. Proc. Soc. Exp. Biol. **66**:558 (1947)
- 92 Scudi, J. V.; Clift, M. E., and Krueger, R. A.: Some Pharmacological Characteristics of Bacitracin. II. Absorption and Excretion in the Dog. Proc. Soc. Exp. Biol. **65**:9 (1947)
- 93 Sedwitz, J.; Batemann, J. C., and Klopp, C. T.: Oxytetracycline Toxicity Studies in Dogs. Antibiotics and Chemotherapy III: 1015 (1953)
- 94 Seeliger, H. P. R.: Laboratoriumsdiagnostik der Bakterienruhr. Leipzig 1953
- 95 Seeliger, H. P. R.: Das Dysbakterie-Problem vom Standpunkt des Mikrobiologen. Zbl. Bakt. Abt. I, Orig. **170**:288 (1957)
- 96 Seeliger, H. P. R.: Der Paracoli-Begriff in heutiger Sicht. Dtsch. med. Wschr. **82**:736 (1957)
- 97 Spoerlein, S.: Zur Frage der sogenannten postantibiotischen Enterocolitis. Medizinische **10**:385 (1958)
- 98 Stoklaska, E., und Zischka, W.: Zur Toxizität therapeutisch verwendeter Penicillin-Verbindungen. Arzneimittelforsch. **9**:31 (1959)
- 99 Timmermann, J. C.; Long, J. P., and Pittinger, C. B.: Neuromuscular Blocking Properties of Various Antibiotics Agents. Toxicol. Appl. Pharmacol. **1**:299 (1959)

- 100 Tonutti, E., und Matzner, K. H.: Über die neurotrope Giftwirkung des Penicillins. *Klin. Wschr.* **28**:516 (1950)
- 101 Vincent, H.: *C. R. Acad. Sci.* 189, 381 (1929) *Zit. Schmidt, H.* (84)
- 102 Vincent, J. G.; Veomett, R. C., and Riley, R. F.: Antibacterial activity associated with *Lactobacillus acidophilus*. *J. Bact.* **78**: (1959)
- 103 Volkmann, H.: *Klinische Tabellen*. VI/9. *Med. Klin.* **6**: (1951)
- 104 Walter, A. M., und Heilmeyer, L.: *Antibiotika-Fibel*. Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1954
- 105 Westphal, O., und Lüderitz, O.: *Angewandte Chemie.* **66**:407 (1954) *Zit. Böhme, B.* (9)
- 106 Zweifach, B.: *Amer. J. Med.* **23**:684 (1957) *Zit. Böhme, B.* (9)
- 107 Zweifach, B.; Nagler, A. L., and Thomas, L.: *J. Exp. Med.* **104**:181 (1956) *Zit. Böhme, B.* (9)

Es ist mir eine angenehme Verpflichtung, an dieser Stelle Herrn Professor Dr. H. KLIEWE für sein freundliches Entgegenkommen und für die Stellung eines Arbeitsplatzes an seinem Institut meinen Dank auszusprechen. Für die Überlassung der Dissertation gilt mein besonderer Dank Herrn Privat-Dozent Dr. S. CARLSON, der jederzeit in zuvorkommender Weise mit Rat und Tat zur Verfügung stand, sowie der medizinisch-technischen Assistentin Fräulein E. SCHÜSSLER, die mir bei den Tierversuchen behilflich war.

LEBENS LAUF

Am 31. Mai 1935 wurde ich, Walter-Ludwig Eyber, als Sohn des Diplom-Chemikers Dr. phil. Gerhard Eyber und seiner Ehefrau Nanny, geb. Tausch, in Halle a. d. Saale geboren. Die Grundschule besuchte ich bis zum 8. Schuljahr in Leuna und anschließend den humanistischen Zweig der Ernst-v.-Harnack-Schule (ehem. Domgymnasium) in Merseburg, die ich im Juli 1953 mit dem Zeugnis der Reife verließ. Darauf studierte ich an der Martin-Luther-Universität Halle Medizin, wo ich nach zwei Semestern das Vorphysikum in den Fächern Biologie, Physik, Chemie und nach weiteren zwei Semestern im Juli 1955 die ärztliche Vorprüfung (Physikum) in den Fächern Anatomie, Physiologie und Physiologische Chemie ablegte.

Mit Beginn des Wintersemesters 1955/56 begann ich mein klinisches Studium an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz und war im Sommersemester 1957 und Wintersemester 1957/58 ehrenamtlich als Fachschaftsleiter der Klinikerschaft tätig und in dieser Eigenschaft Mitglied des Studentenparlaments. Nach erfolgreicher Absolvierung meiner klinischen Vorlesungen, Kurse und Famulaturen ersuchte ich nach sieben klinischen Semestern, mit Ablauf des Wintersemesters 1958/59, um meine Zulassung zur ärztlichen Prüfung, welche ich in der Zeit vom 3. März 1959 bis 6. Juni 1959 in Mainz ablegte.

Nach dem Staatsexamen war ich im Hygiene-Institut der Universität Mainz mit Versuchen zur Anfertigung meiner Dissertation beschäftigt.

Ab Mai 1960 war ich im Stadtkrankenhaus Meisenheim/Glan als Medizinalassistent chirurgisch tätig und setzte seit Dezember 1960 meine Medizinalassistentenzeit auf der geburtshilflich-gynaekologischen Abteilung im St.-Rochus-Hospiz, Mainz-Mombach, fort.

Mainz, Mai 1961

